Ministerium für Land-, Forst- und Nahrungsgüterwirtschaft
der

Deutschen Demokratischen Republik

Abteilung Veterinärwesen

Klinisch-chemische

UNTERSUCHUNGSMETHODEN

für

veterinär-medizinische Einrichtungen establishments

der

Deutschen Demokratischen Republik

Band 1

9200

Institut für angewandte Tierhygiene Eberswalde-Finow

Ministry of Agriculture

Fisherics and Food Veterinary Laboratory

Library

Class No. Q.P.G.AT.X

Auth. Mix. GER.

Access No. CSIII.

Demand No.....

31 694139

WELLCOME INSTITUTE LIBRARY

Coll. Wellsomed

Coll. No. V

		Abkürzungsverzeichnis		
A	00.1	Grundausrüstung für die Mikrolitertechnik		
	01.1	Entnahme, Primäraufbereitung, Aufbewahrung von biologischem Untersuchungsmaterial		
	02.1	Plasma-Gewinnung		
•	03•1	Serum-Gewinnung		
	04.1	Qualitätskontrolle (Präzision einer Methode)		
	04.2	Qualitätskontrolle (Wiederauffindung)		
	05 • 1	Probenaufbereitung - Reinigung		
	05•2	Probenaufbereitung - Veraschung		
	05•3	Probenaufbereitung - Säureaufschluß		
	05•4	Probenaufbereitung - Kasein-Fällung		
В	01.1	Hämatokrit (Hk)		
	02.1	Hämoglobin (Hb)		
	03.1	Methämoglobin (Hämiglobin)		
E	01.1	Gesamt-Eiweiß		
	01.2.5	Gesamt-Eiweiß-Siebtest		
	02.1	Eiweiß-Fraktionierung (CAF-Elektrophorese)		
	03.1	Y-Globuline (ZnSO ₄ -Trübungstest)		
4	03.1.5	Y-Globuline (ZnSO4-Trübungs-Siebtest)		
	04.1	Albumine		
1 3	10.1	Aspartataminotransferase (GOT) - kinetischer Test		
3	10.1.5	Aspartataminotransferase (GOT) - Siebtest		
- 1	11.1	Leuzinaminopeptidase (LAP)		
	11.1.S	Leuzinaminoepetidase (LAP) - Siebtest		
	12.1	Alkalische Phosphatase (AP)		
- 1	12.1.S	Alkalische Phosphatase (AP) - Siebtest		

1. Fortsetzung

E	12.2	Alkalische Phosphatase (AP) - kinetischer Test		
	13.1	Leuzinarylamidase (LAA) - kinetischer Test		
	14.1			
	15.1	Kreatinkinase (CPK)		
4	1.47.5	Trible & Colorador Color Septimiza		
H	02.1	Gesamt-Östrogene		
	04.1	Butanolextrahierbares Jod (BEJ)		
	-11			
K	01.1	Glukose (o-Toluidin-Methode)		
	01.1.1	Glukose (o-Toluidin-Methode ohne Enteiweißung)		
	01.2	Glukose (enzymatisch)		
	01.2.5	Glukose - Siebtest (enzymatisch)		
M	01.1	Kalzium (komplexometrisch)		
	01.2	Kalzium (flammenphotometrisch)		
	02.1	Magnesium		
	02.2.5	Magnesium - Siebtest		
	03.1	Natrium (flammenphotometrisch)		
	04.1	Kalium (flammenphotometrisch)		
	05.1	Eisen		
	05.1.1	Eisenbindungskapazität (totale)		
	06.1	Phosphor (anorganisches Phosphat, organisch- gebundener Phosphor, Gesamt-Phosphor)		
	06.2.S	Anorganisches Phosphat - Siebtest		
	10.1	Netto-Säure/Base-Ausscheidung (NSBA)		
	10.1.S	Netto-Säure/Base-Ausscheidung (NSBA) - Siebtest		
	11.1.S	Alkalireserve (AR) - Siebtest		
	10			

INHALTSVERZEICHNIS

(Stand Dezember 1978)

2. Fortsetzung

Serie Line
APPEAR ALIEN-
7.
and the same of
mung)
-
clinisch-
inärmedi-

A 05.1

Reinigung:

Biologische Substrate werden durch Reinigung (Entfettung, Entfernung anhaftender Schmutzteilchen, ...) in definierte Ausgangsmaterialien für Mineralstoffanalysen überführt.

Haare, Knochen

Reagenzien:

Nr.	Reagenz	Konz. Herstellung
1	Trichloräthylen	The second of the last terms of the second o
		The transfer of the Control of the C
		The same passes
		THE RESERVE THE PARTY OF THE PA
	5 10	THE PROPERTY AS SERVICE AS

Haare

Ausführung:

	Geräte	Ausführung	Anmer- kungen
1		2 - 5 g pigmentiertes Deckhaar in Filterpapier zu Röllchen zusammenwickeln.	1
2	Extraktions- apparatur	mit Trichloräthylen extra- hieren, bis das Lösungsmittel farblos abläuft (ca. 2 Stunden).	2
3		Filterröllchen an der Luft trocknen (Abzug!); Haare in Erlmeyerkolben überführen.	
4		+ 100 ml dest. Wasser schütteln (2 Min.), Wasch- wasser abdekantieren und ver- werfen. Arbeitsschritt 4 noch 2 x wiederholen.	3
5		Probe bis zur Gewichtskonstanz bei 105 °C im Trockenschrank trocknen. Weiterverarbeitung der Haare nach Arbeitsvorschrift A 05.2 bzw. A 05.3.	

- 1 Gewinnung von pigm. Deckhaar siehe Arbeitsvorschrift A 01.1.
- Zum Extrahieren verwendet man Soxhlet-Apparaturen oder auch handelsübliche Mehrzweckextraktoren.
- Das letzte Spülwasser kann für den ersten Waschvorgang der nächsten Probe benutzt werden.

ground last

negotional references

in Filterpapier au Eillichen ausemmenwickeln.

estize nafyhinaldehit ika his ou, bis dae liksungent lei fanblos ebikuft (m. 2002).

Pilterrällcher an den lud' fréeknen-(Aurug!), masse la Britanerkolben Starff

Total deeth. Whosen

rers' fir aun ildes esser Sbdakarioren esrler. Arbeitereh. il " ogn wiederbeis

Probe bis ner Beri brake 105 Ti in Eroslensekrin Priseriers us Island servings Beidemens us Island servings nach britigsporsekrift a

von eige. Diekkabei eiele Arbeiten a.

on or energy of which the common of the state of the common of the commo

e minus marin and all's marin mem

PROBENAUFBEREITUNG Reinigung Knochen

Ausführung:

	Geräte	Ausführung	Anmer- kungen
1	Skalpell (Knochen- säge)	Knochenprobe mit Skalpell Knorpel, Periost und Kompakta entfernen und verwerfen. Nur Spongiosa weiterverarbeiten.	1
2	Soxhlet- Apparatur	Spongiosa 4 Stunden bei 105 °C (Trocken- schrank!) im Becherglas trocknen; Probe in Filterpapier einwickeln und in Soxhlet-Apparatur 8 Stunden mit Trichloräthylen extrahieren.	
3		Probe anschließend bei 120 °C (Trockenschrank!) bis zur Gewichtskonstanz trocknen; im Exsikkator abkühlen lassen. Weiterverarbeitung der fettfreien Knochen-Trockensubstanz (FFT) nach Arbeitsvorschrift A 05.2 bzw. A 05.3.	

Anmerkungen:

Gewinnung der Knochenprobe erfolgt nach Arbeitsvorschrift A 01.1.

Manager County

AFICEUTY

Boningsoffs.

oft Shelled Entropel, Ferton und Fompaste verternam was semereon. Loonered vertellingeren of ten.

EEC CEB

A Stunder Lei 105 °C (Trockeisschrenk!) im Bedberrius trocknor irobe in Thliangspior or elekuirad in Soxhlei-Apparatur : 105 m wit Tricklor: hylen extrabit en.

Probe sanchissiand bei 120 Pi (Trockanechrank!) bas ur exichtekomstand trockien; im I sbkunden lassen, Welterverscheitung der Tettrale Kacken-lacokemenbetehr (FF : st Arbeiterorschrift a "" - m.

forma Monantinonii tob umum

1442

PROBENAUFBEREITUNG

Reinigung

Knochen, Haare

Methodenbearbeitung:

Haare:

BIV Gera, 1977 IaT Eberswalde-Finow, 1976 Knochen:

Verbindlichkeitstermin:

1. 03. 1979

Veraschung:

Biologisches Material wird bei Temperaturen oberhalb 550 °C verascht. Die Asche wird in Salzsäure gelöst. In der so er-haltenen Lösung können die Mineralstoffe (Mengen- und Spuren-elemente) nach den jeweiligen Arbeitsvorschriften quantitativ bestimmt werden.

Diese Methode ist nicht geeignet zur Bestimmung der Elemente Pb, Cd, Hg, Fe und As. In diesen Fällen ist es richtiger, die Arbeitsvorschrift A 05.3 anzuwenden.

Haare, Organe, Futtermittel, Knochen

Reagenzien:

Nr.	Reagenz	Konz.	Herstellung
1	Salzsäure	25 %	Zu 330 ml dest. Wasser sind vorsichtig 670 ml konz. Salz-säure p.a. zu geben.

The first of the second of the second objects of the second of the secon

te and to Indiana and Bes imming der Flomerto te and to In disen Delive iet es rich par, a.c.

Fri products, (atdibers for

DESCRIPTION OF STREET PROPERTY O

The fearth trans THORE will be to the same but and succession and

the course, but in a station contribution production of growing production of growing and production of the course of the course

	Geräte	Ausführung		Anmer- kungen
1	Quarz- tiegel	2,5 g	pigmentiertes Deckhaar	1
		,	Probe in kalten Muffelofen stellen. Anschließend auf 550 - 600 °C erhitzen. Veraschungsdauer: ca. 6 Stun- den. Abkühlen lassen.	2
2		+ 5,0 ml	Asche Salzsäure	3
			Die Salzsäure ist im Ver- aschungstiegel auf die Asche zu geben. 60 Min. stehen lassen.	4
3		+ 20,0 ml	bidest. Wasser	
		1	mischen.	

- Reinigung von pigmentiertem Deckhaar siehe Arbeitsvorschrift A 05.1.
 - Achtung! Starke Geruchsbelästigung. Muffelofen im Abzug aufstellen. 2
 - Die Asche muß frei von Kohlenstoffpartikeln sein. Evtl. 3 erneut erhitzen. Ofentemperatur kontrollieren!
 - 4 Die Asche muß von der Salzsäure vollständig benetzt werden.

minaboldati ung. Madifelodat la a

ware is the enthance the ser arm.

or systems fallbullor able tel web nov has

The control of the co

1000

A South of the same

A STATE OF THE STA

	Geräte	Ausführung	Anmer- kungen
1	Quarz- tiegel	1,0 g Organprobe (Trockensubstanz) bzw. 4,0 g Organprobe (Frischsubstanz)	1
		Probe in kalten Muffelofen stellen. Anschließend auf 550 - 600 °C erhitzen. Veraschungsdauer: ca. 6 Stun- den. Abkühlen lassen.	2
2		Asche + 2,0 ml Salzsäure	3
		Die Salzsäure ist im Ver- aschungstiegel auf die Asche zu geben. 60 Min. stehen lassen.	4
3		+ 8,0 ml bidest. Wasser	
		mischen.	

- Organprobe bei 105 °C im Trockenschrank bis zur Gewichtskonstanz (ca. 6 Stunden) trocknen; anschließend mörsern.
- 2 Achtung! Starke Geruchsbelästigung. Muffelofen im Abzug aufstellen.
- Die Asche muß frei von Kohlenstoffpartikeln sein. Evtl. erneut erhitzen. Ofentemperatur kontrollieren.
- 4 Die Asche muß von der Salzsäure vollständig benetzt werden.

Settle part prostruction - ---

4

,

	Geräte		Ausführung	Anmer- kungen
1	Quarz- tiegel		Futtermittel Proben bei 550 - 600 °C im Muffelofen veraschen. Veraschungszeit: ca. 6 Stunden. Abkühlen lassen.	1, 2
2			Asche vorsichtig mit wenig bidest. Wasser anfeuchten.	4
3		+ 5,0 ml	Salzsäure 60 Min. stehen lassen.	
4			Lg. quantitativ in 50 ml-Meß- kolben überführen; mit bidest. Wasser auffüllen.	

- Probenvorbereitung nach TGL 80-21875, Blatt 2 .
- Die Proben sind vor der Einwaage bei 105 °C im Trocken-schrank bis zur Gewichtskonstanz zu trocknen (ca. 3 Stun-2 den).
- 3 Achtung! Starke Geruchsbelästigung. Muffelofen im Abzug aufstellen.
- Die Asche muß frei von Kohlenstoffpartikeln sein. Evtl. 4 erneut erhitzen. Ofentemperatur kontrollieren.

Infflorentes

Probable for vertebooks of CT 1st andors in the control of the con

Tre fin Bildetatok neorg Bildeta tersen recolis

sourgestlad Indian

TORRAL MICHE TARRETT

Weller Charithten al. and weapen will len.

ereitung nach Bul 80-1:805, 1881

trivite at analynomical rep paid one

Mistignations ideal not int home

PROBENAUFBEREITUNG

Veraschung

Knochen

A 05.2

Ausführung:

	Geräte	Ausführung	Anmer- kungen
1	Quarz- tiegel	Quarztiegel bei 700 - 800 °C bis zur Gewichtskonstanz aus- glühen (ca. 2 Stunden) Tiegel wägen (= A mg)	
2		+ 0,4 g (mind. 0,1 g) Knochen (FFT)	1
		bei 700 - 800 °C im Muffelofe veraschen. Veraschungsdauer: ca. 8 Stund Im Exsikkator abkühlen lassen	en. 2
3		Tiegel erneut wägen (= B mg)	
4		Asche vorsichtig mit wenig bidest. Wasser anfeuchten.	3
5		+ 5,0 ml Salzsäure	
		60 Min. stehen lassen.	
6		Lg. quantitativ in 100 ml-Meßkolben überführen; mit bidest Wasser auffüllen.	

Berechnung:

Tiegelgewicht B - Tiegelgewicht A = x mg Asche/g FFT

Knocheneinwaage (Knochen)

Enthallens,

Commetidate by 1700 - c.r. v. see see cur de confección (cc. ? Secondo)
(cc. ? Secondo)
(cc. ? Secondo)

(sint, D. 1 g) Maccoon (FFT)

700 800 40 in Ruffelofol
versusohen.
Versusohungsdauer: ce turn l. l

TO T CEARW AMOUND Page 17

Asons fin atthatemy shoal abala

troterial in O. C.

record paners and I

bg. quanti etta in il misHalla. malban überführas; mi 1996:. Wasser amfrüllen.

profession and the second second second second second

the process of a state of the second

015

1.5

PROBENAUFBEREITUNG Veraschung Knochen A 05.2

Anmerkungen:

- 1 Reinigung von Knochenproben (Herstellung der FFT) siehe Arbeitsvorschrift A 05.1.
- 2 Achtung! Starke Geruchsbelästigung. Muffelofen im Abzug aufstellen.
- Die Asche muß frei von Kohlenstoffpartikeln sein. Evtl. erneut erhitzen. Ofentemperatur kontrollieren.

Methodenbearbeitung:

Haare: Organe:

Futtermittel:

BIV Gera, 1977

Knochen:

IaT Eberswalde-Finow, 1976

Verbindlichkeitstermin:

1. 03. 1979

05.3

PROBENAUFBEREITUNG

Säureaufschluß:

Biologische Substrate werden mit einem Säuregemisch aufge-schlossen. In den so erhaltenen Aufschlußlösungen können quan-titative Mineralstoffbestimmungen nach den jeweiligen Arbeitsvorschriften durchgeführt werden.

Haare, Organe, Futtermittel

Reagenzien:

Nr.	Reagenz	Konz	. Herstellung
1	Schwefelsäure p.a.	96 %	
2	Perchlorsäure p.a.	70 %	
3	Salpetersäure p.a.	65 %	
4	Salpetersäure p.a.	32 %	Gleiche Volumenteile bidest. Wasser und Salpetersäure (65 %) vorsichtig mischen.
5	Aufschlußgemisch		9 VolTeile Salpetersäure (65 %), 3 VolTeile Perchlor- säure und 1 VolTeil Schwe- felsäure mischen.
6	Trichloräthylen		

	Geräte	Ausführung	Anmer- kungen
	Erlmeyer- kolben	P L	
1	(100 ml)	1,0 g pigmentiertes - Deckhaar	1, 2
2		+ 10,0 ml Aufschlußgemisch	
		mischen.	
3		auf Heizplatte (ca. 200 °C) im Abzug erhitzen, bis farbloser Rückstand erhalten wird und weiße Perchlorsäuredämpfe aufsteigen. Abkühlen lassen.	4 !
4		Rückstand in wenig bidest. Wasser aufnehmen; Lg. quantitativ in 10 ml-Meßkolben (oder graduiertes RG) überführen und auffüllen.	

- Reinigung von pigmentiertem Deckhaar siehe Arbeitsvorschrift A 05.1.
- Zu jeder Probenreihe ist ein Leeransatz, der nur Aufschlußgemisch enthält, mitzuführen.
- 3 Alle Gefäße vor Gebrauch mit Salpetersäure (32 %) und 2 x mit bidest. Wasser spülen.
- Verfärbt sich das Aufschlußgemisch braun bis schwarz, so ist die Reaktion sofort zu unterbrechen. Nach Abkühlung 5 ml Salpetersäure (65 %) zugeben und erneut erhitzen. Die Anlage 01.1 (Einsatz von Perchlorsäure ...) ist streng einzuhalten!

9

.f - sectoride company of

doelasgiuldentud in O.J.

. gedneim

Rickstond II monig bidest. Resser autheiman, lg. quantities of old ere of old eredutertee RG) Oberführen un auftillen.

von pigmentierten Deckhaar siera iri 11e

The telephonesinie fat edleum

vor Orbers of this the founded nov

sich des Aufock design von det Aufock des Aufock Aufock des Aufock

1

PROBENAUFBEREITUNG

	Geräte	Ausführung	Anmer- kungen
1	Erlmeyer kolben (100 ml)	1 0 a Organnycha	1,2,
2		+ 10,0 ml Aufschlußgemisch mischen; über Nacht stehen lassen.	4
3		auf Heizplatte (ca. 200 °C) im Abzug erhitzen bis farbloser Rückstand erhalten wird und weiße Perchlorsäuredämpfe auf- steigen. Abkühlen lassen.	5.
4		Rückstand in wenig bidest. Was- ser aufnehmen; Lg. quantitativ in 10 ml-Meßkolben (oder gra- duiertes RG) überführen und auffüllen.	

- Organproben bei 105 °C im Trockenschrank bis zur Gewichtskonstanz (ca. 6 Stunden) trocknen und anschließend mörsern.
- Zu jeder Probenreihe ist ein Leeransatz, der nur Aufschlußgemisch enthält, mitzuführen.
- 3 Alle Gefäße vor Gebrauch mit Salpetersäure (32 %) und 2 x mit bidest. Wasser spülen.
- Bei sofortiger Weiterverarbeitung ist den Probenansätzen je 0,5 ml Trichloräthylen zuzufügen.
- Verfärbt sich das Aufschlußgemisch braun bis schwarz, so ist die Reaktion sofort zu unterbrechen. Nach Abkühlung 5 ml Salpetersäure (65 %) zugeben und erneut erhitzen. Die Anlage 01.1 (Einsatz von Perchlorsäure ...) ist streng einzuhalten!

mark the series

PG 5 1

The second second

States Edge and and Sec.

ins than brideshoa is 0,01

wisolem; Wher Machr Coler

recent of centrolls.

- wet all proofer our rose

- Polin Losses-in C

- Porolline OS merry ful-

... Kitches Daged Some Lei 22 Tot Led

ren year : statement then address the rent rent

rine - ortigial the doubled for 983%

n procedure the create decision interest, in distribute the constitution of the consti

	Geräte	Ausführung	Anmer- kungen
1	Erlmeyer- kolben (100 ml)	P	
		1,0 g Futtermittel (Trockensubstanz)	1,2
2		+ 10,0 ml Aufschlußgemisch	
		mischen; über Nacht stehen lassen.	5
3		auf Heizplatte (ca. 200 °C) im Abzug erhitzen bis farbloser Rückstand erhalten wird und weiße Perchlorsäuredämpfe auf- steigen. Abkühlen lassen.	6
4		Rückstand in wenig bidest. Wasser aufnehmen; Lg. quantitativ in graduiertes RG überführen; auf 20 ml auffüllen.	

- Probenvorbereitung nach TGL 80-21875, Blatt 2

 Proben sind vor der Einwaage im Trockenschrank bei 105 °C bis zur Gewichtskonstanz (ca. 3 Stunden) zu trocknen und anschließend zu mörsern.

 Zu jeder Probenreihe ist ein Leeransatz, der nur Aufschlußgemisch enthält, mitzuführen.
 - 4 Alle Gefäße vor Gebrauch mit Salpetersäure (32 %) und 2 x mit bidest. Wasser spülen.
 - Bei sofortiger Weiterverarbeitung ist den Probenansätzen je 0,5 ml Trichloräthylen zuzufügen.
 - Verfärbt sich das Aufschlußgemisch braun bis schwarz, so ist die Reaktion sofort zu unterbrechen. Nach Abkühlung 5 ml Salpetersäure (65 %) zugeben und erneut erhitzen. Die Anlage 01.1 (Einsatz von Perchlorsäure ...) ist streng einzuhalten!

PROBENAUFBEREITUNG

Säureaufschluß

Haare Organe Futtermittel

05.3

Methodenbearbeitung:

IaT Eberswalde-Finow, 1976

Verbindlichkeitstermin:

1. 03. 1979

Free Section 1

INT POST OF SHE WILL W. SON

EL. 61

Place S.

Kasein-Fällung:

Zur Bestimmung klin.-chem. Parameter in Milch (Kolostrum) ist es evtl. notwendig, vorher das Kasein durch Zugabe von Säure auszufällen.

Das nach der vorliegenden Methode gwonnene Milchserum (Molke) ist geeignet zur Bestimmung der Gesamtproteine (Arbeitsvorschrift E 01.1) und der Protein-Fraktionen (Arbeitsvorschrift E 02.1).

Milch (Kolostrum)

Reagenzien:

Nr.	Reagenz	Konz.	Herstellung
1	Essigsäure	ca. 5 %	Zu ca. 90 ml dest. Wasser 5 ml Eisessig p.a. geben; zu 100 ml mit dest. Wasser auffüllen.

ni , toolaren e gestacione taci

L presente postor ett po server

mie leaving der Google aug net vor Beatlantsk der Google sin 1) und der Protein-Trail?

CONTROL C. VARREY COMMANDER OF THE STATE OF

A TANDER CONTRACTOR STORY OF THE STORY

The state of the s

6 4 MM

Ausführung:

	Geräte	Ausführung	Anmer- kungen
1	PH	1,0 ml Milch (Kolostrum) + 1,0 ml dest. Wasser	
		mischen; abkühlen auf 1 °C. 1 Min. zentrifugieren. Kal- te Proben sofort (kalt!) weiterverarbeiten. Fettschicht mit spitzem Glasstab an den Rand drücken.	1
2	PH	1,0 ml entrahmte Milch im Wasserbad auf 35 °C er-	2
		wärmen.	
3		+ 0,1 ml Essigsäure	3
		Essigsäure langsam und unter Schwenken zugeben.	4
		Weitere 10 Min. im Wasserbad belassen; 5 Min. schütteln, zentrifugieren.	
4		Milchserum mit Tropfpipette abnehmen und nach Bedarf weiterverarbeiten.	5

do Essa modera esperada

Angell sons

ont Maleh (Molentrum)

mischer; abbiblen auf Co t Min, nantrifugieren. Kal te Prosun befort (kält!) seitervarerbeiter Retteculch mit enitzer Classiab au den Rand erfekun.

delite atmentacing III O. 1

D' Ef in Lodgessie me

La 1.0.4

Realgelars language that
enter Schrender rigeren
Beltere to Mrt. 12 Espen 182]
belteren; t Min. echlistou

TE loom the correctality of the content of the content of the correct of the corr

240181

The state of

PROBENAUFBEREITUNG Kas

Kasein-Fällung

Milch

A 05.4

Anmerkungen:

- 1 Arbeitsschritt "Entrahmung" muß evtl. wiederholt werden.
- 2 Bei Entnahme der entrahmten Milch Pipettenspitze tief eintauchen und nach dem Ansaugen außen abwischen.
- Flockt das Kasein nach Zugabe der Essigsäure nicht aus (bzw. ist das Milchserum nach der Zentrifugation trüb), so sind weitere 0,1 ml Essigsäure zuzugeben und Arbeitsschritt 3 ist zu wiederholen.
- Der pH-Wert der Reaktionsmischung soll zwischen 4,5 und 4,8 liegen.
- Es ist zu berücksichtigen, daß bei quant. Bestimmungen von Parametern in diesem Milchserum die Ergebnisse mit dem Faktor F = 2,2 (bei Zusatz von insgesamt 0,2 ml Essigsäure mit F = 2,4) zu multiplizieren sind.

Methodenbearbeitung:

IaT Eberswalde-Finow, 1976

Verbindlichkeitstermin:

1. 03. 1979

more all this seek of

ter authors and need hor

Items (), or

Paremetern in.
Paremetern in.
Paktor F = 2.7 ('er

hed the same

Methämoglobin hat bei 632 nm ein Absorptionsmaximum, das nach Überführung in Hämiglobincyanid verschwindet. Die Extinktionsdifferenz des hämolysierten Blutes vor und nach Zugabe von Kaliumcyanid ist proportional der Hämiglobin-Konzentration. Der Berechnung wird die an einer zweiten Probe des gleichen Blutes nach Oxydation des gesamten Hämoglobins ermittelte Extinktionsdifferenz zugrunde gelegt.

Blut (heparinisiert)

Reagenzien:

Nr.	Reagenz	Konz.	Herstellung
	Puffer-Lg. (pH: 6,8)		a. 11,876 g Dinatriumhydrogen- phosphat (Na2HPO4 · 2H2O) oder 23,875 g Na2HPO4 . ` 12H2O in dest. Wasser zu 1 000 ml Lg. lösen.
			b. 9,078 g Kaliumdihydrogen- phosphat in dest. Wasser zu 1 000 ml Lg. lösen.
			c. 492 ml Lg. b mit Lg. a zu 1 000 ml auffüllen. pH-Wert mit Glaselektrode überprüfen.
2	Kaliumcyanid- Lg.	ca. 0,5 g/ 100 ml	0,1 g Kaliumcyanid in 20 ml dest. Wasser lösen.
3	Hexacyanoferrat (III)-Lg.	ca. 5 g/ 100 ml	1 g Kaliumhexacyanoferrat(ITI) in 20 ml dest. Wasser lösen. Haltbarkeit: ca. 3 Tage bei 2 - 5 °C.

Commit Experience provides or an even experience a development of the contract of the contract

THE TOTAL STATE OF THE STATE OF

7) (7)

, P

namer pron Ay 2.0

40776

restruction

Ausführung:

	Geräte	Ausführung	Anmer- kungen
1	PH	2,000 ml dest. Wasser + 0,250 ml heparinisiertes Blut	1
		mischen. 10 Min. stehen lassen.	
2		+ 2,000 ml Puffer-Lg.	2
-contin design delign	========	mischen; zentrifugieren.	_=====
3	1 cm- Küvette	1,500 ml Überstand 0,500 ml Überstand + 1,000 ml Puffer-Light + 0,025 ml Hexacyand (III)-Light	g. oferrat-
		mischen; Extinktion (E ₁) bei 630 nm ge- gen Wasser messen. mischen; Extinktion (E ₃) nach 3 Min. 630 nm gegen Wassen messen.	bei
		+ 0,025 ml Kalium- cyanid-Lg. + 0,025 ml Kaliumcya	anid-
		mischen; nach 5 Min. mischen; nach 5 Min. Extinktion (E ₂) bei Extinktion (E ₄) be 630 nm gegen Wasser messen.	ei 630

Berechnung:

$$\frac{E_1 - E_2}{3 (E_3 - E_4)} \quad . \quad 100 \% = x \% \text{ Methämoglobin}$$

E Colombia Colombia

rocect , teel in OCO.S

mis him. 10 Min. stehen

. pl-solite in Doo, S a

ated on; sent: Afugior.n.

reteredu la Cue.u . brodaradi La Cue.t

uderion; Entiuntion Eq) boi 630 is regen Wasser der e

ni-finate

Add (el) make the following the first training the first training to the first training to the first training to the first training training to the first training tr

ncoder nosa (rd) .. m OEd

- moster

elector. Nettokeloi wo gassk Tagon

to gotte them to a different

The state of the s

METHÄMOGLOBIN
(HÄMIGLOBIN)

Blut

B 03.1

Anmerkungen:

- Die Bestimmung sollte möglichst schnell nach der Blutentnahme durchgeführt werden. Bei kühler Aufbewahrung (2 - 5 °C) in verschlossenen Gefäßen (z.B. PA) kann die Bestimmung noch nach 24 Stunden vorgenommen werden.
 - Die Blutverdünnung muß umgehend weiterverarbeitet werden.

Methodenmerkmale:

Methodenbearbeitung:

IaT Eberswalde-Finow; 1978

Präzision:

in der Serie:
(n = 20)

8 % ≤ 10,0

Probenanzahl/Tag · AK:

mind. 30 (Einfachbestimmungen)

Verbindlichkeitstermin:

1. 03. 1979

Andrew we was a product of the state of the

At In. Heat De Mil Co.

77 J. R B

Anne

P-214 Million of the first extraordisection to pay the constitutions are a communication and

.

CT STATE C STOLE ACTIVITY REMAINS A BM LEBOURD LABOUR

6-1 50 f pe

E 01.2.5 GESAMT-EIWEISS

Siebtest:

Verdünnte Serumproben werden auf Zelluloseazetatfolien oder Filterpapier aufgetragen und mit Amidoschwarz 10 B angefärbt.

Die Farbintensitäten der blauen Spots werden visuell gegen die von Test-Eiweiß-Lösungen eingeschätzt.

Serum

Reagenzien:

Nr.	Reagenz	Herstellung
1	Zelluloseazetat-Folie (Filterpapier FN 2)	
2	Amidoschwarz 10 B-Lg.	5 g Amidoschwarz 10 B in einer Mischung aus 900 ml Methanol und 100 ml Eisessig lösen. Farblösung vor Gebrauch fil- trieren.
3	Entfärbebad	Mischung aus 900 ml Methanol und 100 ml Eisessig. Regenerierung des Entfärbebades durch Filtration über Aktiv- kohle.

Ausführung:

	Geräte			Au	ısführung	Anmer- kungen
1	Misch- platte	0,2	200	ml	dest. Wasser	1
					P St	
2		+ 0,0	10	ml	Serum + 0,010 ml Testserum	2
		\$			mischen	
3	Auftrage- schablone	0,0	05	ml	Verdünnung	
					mit Auftrageschablone auf Zelluloseazetatfolie auf- tragen.	3
4					Folie sofort (ohne zu trock- nen) in Färbebad legen (5 Min.). Danach im Ent- färbebad entfärben bis die Folie außerhalb der Proben farblos ist (3 - 5 Min.). Dabei ist das Entfärbebad evtl. zweimal zu wechseln. Folie anschließend in Was- ser legen.	
5					Blaue Spots visuell in nassem Zustand bewerten.	

Auswertung:

Die Farbintensitäten der blauen Spots sind proportional den Gesamt-Eiweiß-Konzentrationen in den Proben.

Die Farbintensität der blauen Spots der Proben ist gegen die des Testserum-Spots visuell abzuschätzen.

FORE TY

en mint and

0.200 al sect, Restar

The 1889 Et 110.0 + course in old (

rema . W In 2005 of

(Abr. 24 lm

(5 Min.). Da obin o in

(6 Min.). Da obin o in

(6 Min.). Da obin o in

(6 Min.)

(7 Min.)

(8 Min.)

The section der blower Barts sind gropostizesul-

Pil per mederil nau bingi nemald neh dist.

0,59

GESAMT-EIWEISS

Siebtest

Serum

E 01.2.S

Anmerkungen:

- 1 Die bereiteten Verdünnungen können auch für den GLUKOSE-Siebtest (K 01.2.5) und den & -GLOBULIN-Siebtest (E 03.1.5) eingesetzt werden.
- 2 Als Testserum ist ein Serum der gleichen Tierart mit einer Eiweißkonzentration an den unteren Grenze des Normbereichs zu verwenden.
- Anstelle der Zelluloseazetatfolie kann auch Filterpapier FN 2 eingesetzt werden. In diesem Fall ist das Filterpapier nach dem Auftragen der Serumproben mit der Heißluftdusche zu trocknen und anschließend zu färben. Die Entfärbung erfolgt nur 3 Min. mit dem angegebenen Entfärbebad und dann weiter mit 30%iger Essigsäure (1 2 Stunden). Das Filterpapier wird anschließend kurz in Methanol gespült und heiß getrocknet.

Methodenmerkmale:

Methodenbearbeitung:

IaT Eberswalde-Finow, 1976

Proben mit Eiweißkonzentrationsdifferenzen von ca. 0,5 g/100 ml sind deutlich voneinander zu unterscheiden.

Probenanzahl/Tag · AK:

mind. 400 (Einfachbestimmungen)

Verbindlichkeitstermin:

1. 03. 1979

EIWEISS-Fraktionierung	E 02.1
Zelluloseazetat-Folien-Elektrophorese	
Serum (Anmerkung 1)	

Reagenzien:

Nr.	Reagenz	Herstellung
1	Natriumchlorid-Lg.	20 g Natriumchlorid in 100 ml dest. Wasser lösen.
2	Puffer-Lg.	8 g Barbital-Natrium und 4 g Natriumazetat p. a. in dest. Wasser lösen; auf 1 000 ml auffüllen.
3	Färbebad	5 g Amidoschwarz 10 B in einem Ge- misch aus 900 ml Methanol und 100 ml Eisessig lösen. Lg. vor Gebrauch filtrieren.
4	Aktivkohle (gepulvert; Sorte EPN)	
5	Entfärbebad	Mischung aus 900 ml Methanol und 100 ml Eisessig bereiten. Regenerierung des Entfärbebades durch Filtration über Aktivkohle.
6	Transparenzbad	Mischung aus 74 ml 1,4-Dioxan und 26 ml i-Butanol bereiten.
7	Zelluloseazetat- Folie (Format: 20 x 75 mm)	

EIWEISS-Fraktionierung

Zelluloseazetat-Folien-Elektrophoress

Serum

E 02.1

Ausführung:

A. Elektrophorese

	Geräte	Ausführung	Anmer- kunzen
1	Universal- Trennkammer mit Strom- versorgungs- gerät 301 E (CARL ZEISS Jena)	Trennkammer vorbereiten.	2
2		Zelluloseazetat-Folien waage- recht auf Puffer-Lg. fallen las- sen (!) und danach untertauchen. Auf vollständiges Benetzen der Folien achten! Folie nach wenigen Min. auf Fließpapier legen und abtupfen.	2
3	Objekt- träger	Filterpapierstreifen (ca. 15x5 mm) auf Objektträger legen und mit Serum tränken. Serum mit einem Gummistempel ca. 20 mm vom unteren Ende der Folie als schmalen Strich (10 mm lang) senk-recht zur Laufrichtung auftragen.	
4		Folien in die vorbereitete Trenn- kammer einlegen. Gerät schließen; Spannung anlegen. Elektrophoresebedingungen: Spannung: 190 V Stromstärke: ca. 1 mA/Folie Laufzeit: 60 Min. (Puffer: pH: 8,6 - 9,0; Ionenstärke: 0,067) (Laufstrecke: 35 - 40 mm)	4
5		Apparatur abschalten und öffnen. Folien am unteren Rand mit Kugel-schreiber beschriften und sofort weiter nach B. bearbeiten.	

Ausführung:

B. Anfärbung und Auswertung der Pherogramme

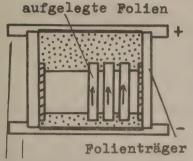
	Geräte	Ausführung	Anmer- kungen
ques		Pherogramme sofort feucht 5 Min. in Färbebad legen. Färbebad leicht schwenken.	
2		Pherogramme bis zur völligen Ent- färbung der eiweißfreien Bereiche in Entfärbebad legen (ca. 5 Min.). Entfärbebad während dieser Zeit zweimal erneuern.	
3	Objekt- träger	Pherogramme blasenfrei auf Objekt- träger aufziehen. Überschüssiges Entfärbebad mit Handballen (Gummi- handschuhe tragen!) abstreichen. Pherogramme evtl. neu beschriften. Pherogramme bis zur Transparenz in Transparenzbad legen (max. 5 Min.!).	
4	Trocken- schrank	Pherogramme sofort 5 Min. bei 100 - 105 ^O C im Trockenschrank härten.	
5	Auswert- gerät ERI 65 m	Auswertung der Pherogramme entspre- chend Gebrauchsanweisung des Auswert- gerätes (Durchlichtmessung; Meßstrah- lung: 560 nm; Abszissenstreckung).	5

Anmerkungen:

- Serumproben für die elektrophoretische Eiweißfraktionierung dürfen nicht eingefroren werden!
- Vorbereitung der Trennkammer: Elektrodengefäße mit Natriumchlorid-Lg. füllen, Elektroden einführenx).

Kleine und große Pufferbecken mit Puffer-Lg. füllen. Puffer-Lg. in den kleinen Becken täglich, Puffer-Lg. in den großen Becken wöchentlich oder bei unbefriedigenden Trennergebnissen erneuern.

Folienträger auflegen und mit puffergetränkten Filterpapier-



Pufferbecken

streifen entsprechend Abb. belegen. Das Filterpapier muß in die Puffer-Lg. in beiden großen Becken eintauchen. x) Neue Elektroden müssen vor der ersten Benutzung formiert werden: Elektrodengefäße mit Natriumchlorid-Lg. füllen: Elektroden einführen und anschließen. Große und kleine Pufferbecken mit Puffer-Lg. füllen. Folienträger auflegen und mit drei bis vier Folienträger 4 cm breiten puffergetränkten Filterpapierstreifen, die in die Pufferlösungen eintauchen müssen, belegen.

Apparatur schließen und mit einer Gleichspannungsquelle (ca. 200 V, 4 h) verbinden. Danach Apparatur öffnen, Flüssigkeitsstand in den Pufferbecken und den Elektrodengefäßen kontrollieren, umpolen und erneut eine gleichgroße Gleichspannung 2 h anlegen. Apparatur anschließend reinigen und w. o. für Elektrophoresen neu vorbereiten.

- Die folgenden Arbeitsschritte müssen mit jeder Folie relativ schnell durchgeführt werden: Folie aus Puffer-Lg. entnehmen - Folie auf Fließpapier legen und abtupfen - Serum auftragen (Folie verbleibt dabei auf dem feuchten Fließpapier!) - Folie in die Trennkammer ein-legen - Folienträger mit Deckel abdecken. Es ist darauf zu achten, daß die Folien dabei nicht trocken werden (Entstehung heller Flecken!).
- Die Folien werden zwischen die Filterpapierstreifen parallel zur Stromrichtung (s. Abb.) so gelegt, daß die Serumauftrag-stellen zur Kathode zeigen (die Proteine wandern unter den angegebenen Bedingungen zur Anode!). Nach jeder Elektrophorese ist das Gerät umzupolen!
- 5 Bei stark gefärbten Pherogrammen kann der Extinktionsschreiber den oberen Anschlagspunkt erreichen. Dabei wird die richtige Aufzeichnung der Extinktionskurve unterbrochen und die Auswertergebnisse werden fehlerhaft. In solchen Fällen ist das Filter 530 nm in den Meßstrahlengang einzusetzen. Erscheint die Albuminbande sehr breit und dabei tiefschwarz, dann ist die Elektrophorese mit einer geringeren Serummenge zu wiederholen.



EIWEISS-Fraktionierung

Zelluloseazetat-Folien-Elektrophorese

Serum

E 02.1

Berechnung:

- 1. Die quantitative Ermittlung der Anteile der einzelnen Eiweißfraktionen (rel. %) erfolgt durch Auswertung der vom Auswertgerät gezeichneten Extinktions- und Integrationskurve (s. dazu Gebrauchsanweisung).
- 2. Berechnung der absoluten Konzentrationen der einzelnen Eiweißfraktionen im Serum:

a: Fraktion A in rel. %

z: Gesamt-Eiweiß-Konzentration des Serums in g/100 ml (zu bestimmen nach Methode E 01.1).

Methodenmerkmale:

Methodenbearbeitung:	IaT Eberswalde-Finow, 1973 - 1974
Präzision:	
in der Serie: (n = 20)	Albumine: s % & 3,0
(11 55 CV)	Globuline: : s %
von Tag zu Tag: (n = 10)	Albumine: s % 4,0
	Globuline: : s %
Probenanzahl/Tag • AK:	abhängig von der Anzahl der ein- gesetzten Elektrophoreseapparaturer (ca. 50 Bestimmungen/App. • Tag)

Verbindlichkeitstermin:

1. 03. 1979



ZINKSULFAT-Trübungstest:

Durch Zink-Ionen werden im pH-Bereich von 6 - 8 vorrangig & - Globuline aus Serum ausgefällt. Die Intensität der entstehenden Trübung korreliert positiv mit der & -Globulinkonzentration. Die Methode ist nicht geeignet zur quantitativen & -Globulin-Bestimmung. Als Ergebnis werden lediglich Trübungseinheiten angegeben.

Serum

Reagenzien:

Nr.	Reagenz	Konz.	Herstellung
1	Bariumchlorid-Lg.	1,0 g/ 100 ml	1,17 g Bariumchlorid (BaCl ₂ · 2H ₂ O) in dest. Wasser zu 100 ml Lg. lösen.
2	Schwefelsäure	ca. 0,2 N	5,6 ml konz. Schwefelsäure mit dest. Wasser auf 1 000 ml auf-füllen.
3	Puffer-Lg. (pH: 6,8)		140 mg Na-Azetat und 200 mg Barbital-Na in 1 000 ml dest. Wasser lösen, 5 ml 0,1 N Salz- säure zugeben. pH-Wert der Lg. mit weiterer Salzsäure auf 6,8 einstellen (Glaselektrode!).
4	Zinksulfat-Lg.	1,2 g/ 100 ml	1,2 g Zinksulfat (ZnSO ₄ · 7H ₂ O in dest. Wasser zu 100 ml Lg. lösen.
5	Zinksulfat- Puffer-Lg. a		100 ml Puffer-Lg. mit 1,0 ml Zinksulfat-Lg. versetzen. Mischung täglich frisch berei- ten.
6	Zinksulfat- Puffer-Lg. b		100 ml Puffer-Lg. mit 0,3 ml Zinksulfat-Lg. versetzen. Mischung täglich frisch berei- ten.

LIUCOIC-N

1 footsprooffett-2

ing landroov is a sove force of the getween near lead of a little come near lead of the sound of

en el ser la compania de la compania del compania del compania de la compania del la compania de la compania del la compania de la compania de la compania del la co

deby. The Close to the Color of the Color of

A TOT OS

A TOT

102 El La dosc, Warms an

100 Mg Profitoreleg, mil

0 331

1

Ausführung A: (Anmerkung 1)

	Geräte	Ausführung				
		P L St				
4	PH (H-RG)	1,80 ml 1,80 ml s. Anmerkung 2 ZnSO ₄ -Puffer- Puffer- Lg. a Lg.	2			
2		+ 0,02 ml Serum	3			
		mischen.				
3		Nach 30 Min. innerhalb von 1 h nach kurzem Schütteln bei 660 nm P und L gegen Wasser photometrieren. Gleichzeitig sind die Extink- tionen der Bariumsulfat-St Suspensionen (Anmerkung 2) I, II und III zu messen.				

Berechnung:

- 1. Die Extinktionen der Leeransätze sind von denen der Probeansätze zu subtrahieren.
- 2. Durch Auftragen der Extinktionen der Bariumsulfat-St.-Suspensionen I, II, III gegen die entsprechenden Trübungsein-heiten (Anmerkung 2) ist eine Eichkurve zu konstruieren.
- 3. Die Trübungseinheiten der Serumproben sind an dieser Eich-kurve abzulesen.

Sarum

Ausführung B: (Anmerkung 1)

	Geräte	Ausführung				
		Р	L		St	
1	PH (H-RG)	1,80 ml ZnSO ₄ -Pu Lg. b	ffer-	8.	Anmerkung 2	2 4
2		+ 0,02 ml	Serum mischen.		·	3
3			de nach kurz 660 nm P geg metrieren. Gleichzeitig tionen der B	em Sch en Was sind ariums nsione	die Extink- gulfat- n I, II, III	

Berechnung:

- 1. Durch Auftragen der Extinktionen der Bariumsulfat-Stand .-Suspensionen I, II u. III gegen die entspr. Trübungseinheiten (Anmerkung 2) ist eine Eichkurve zu konstruieren.
- 2. Die Trübungseinheiten der Serumproben sind an dieser Eichkurve abzulesen.

Anmerkungen:

Der Zinksulfat-Trübungstest in der Ausführung A ist besonders geeignet, niedrige Y-Globulinkonzentrationen zu erfassen. Er wird deshalb vorrangig eingesetzt zur Überprüfung der Y-Globulinversorgung der Jungtiere in der Säugeperiode.

Der ZnSO4-Trübungstest in der Ausführung B eignet sich vorrangig zur Erfassung von erhöhten &-Globulin-Konzen-trationen bei Tieren außerhalb der Säugeperiode.

Samm

Zur Eichung des Trübungstests sind Bariumsulfat-Standard-2 Suspensionen zu bereiten: Die angegebenen ml Bariumchlorid-Lg. sind mit 0,2 N Schwefelsäure jeweils zu 10 ml aufzufüllen.

	ml BaCl ₂ -Lg.	Trübungs- einheiten
I	0.1	10
II	0.2	20
III	0.3	30

Die Lösungen sind vor dem Zusammengeben auf 2 - 4 °C abzukühlen. Die Standard-Suspensionen sind unmittelbar vor dem Messen zu bereiten und vor dem Einfüllen in die Küvetten gründlich durchzumischen.

Zur Vereinfachung der Arbeit kann in der unter Ausführung A bzw. B beschriebenen Weise SERULAT EG als Standardlösung mitgeführt werden. Die Trübungseinheiten des SERULAT EG müssen vorher ermittelt werden. Veränderungen treten bei angebrochener Flasche innerhalb von 2 Wochen nicht auf. Die Berechnung der Trübungseinheiten der Proben erfolgt dann nach der Formel:

- Die Serumproben sollten möglichst am Entnahmetag verar-3 beitet werden. Altere oder gefrorene Proben ergeben im allgemeinen niedrigere Trübungswerte.
- 4 Bei stark getrübten oder lipämischen Seren ist für jede Probe ein gesonderter Leerwert zu bereiten (s. dazu Ausführung A!).

ZINKSULFAT-Trübungstest

Serum

E 03.1

Methodenmerkmale:

Methodenbearbeitung:

IaT Eberswalde-Finow; 1976

Präzision:

in der Serie:
(n = 20)

s % 4 4,5

Probenanzahl/Tag · AK:

mind. 250 (Einfachbestimmungen)

Verbindlichkeitstermin:

1. 03. 1979

ZINKSULFAT-Trübungs-Siebtest:

Durch Zinkionen werden bei pH 6 - 8 vorrangig Y-Globuline aus Serumproben ausgefällt.

Die Intensitäten der auftretenden Trübungen (bzw. Fällungen) werden visuell eingeschätzt und mit einem Testserum verglichen. Der Siebtest ist einzusetzen zur Einschätzung der X -Globulinversorgung im postnatalen Zeitraum.

Serum

Reagenzien:

Nr.	Reagenz	Herstellung
1	Zinksulfat-Puffer-Lg. (pH 6,8)	a) 140 mg Natriumazetat und 200 mg Barbital-Natrium in 1 000 ml dest. Wasser lösen. 5 ml 0,1 N Salzsäure zugeben. pH-Wert der Lg. mit weiterer Salzsäure auf 6,8 einstellen (Glaselektrode!).
		b) 1,2 g Zinksulfat (ZnSO4.7H2O) in dest. Wasser zu 100 ml Lg. lösen.
		c) 100 ml Puffer-Lg. a mit 2,0 ml Zinksulfat-Lg. b mischen. Lg. c täglich frisch bereiten.

2100510

or threather glypperson a & & To book

is and the constraint and an indicate of the second constraints of the constraint and an indicate of the constraint and constraints and constraints.

THE PARTY OF THE PROPERTY OF THE PARTY OF TH

COMMITTER TO SEA OF STREET

81-791919-18

- vi this of the contract of the
- 20 SER PARES D. C.

and the second

Ausführung:

	Geräte	Ausführung	Anmer- kungen
1	Misch- platte	0,200 ml dest. Wasser	1
2		P St + 0,010 ml Serum + 0,010 ml Testserum mischen.	2, 3
3	Tüpfel- platte	0,050 ml Verdünnung + 0,110 ml Zinksulfat-Puffer-Lg. mischen.	
4		Nach 10 Min. Trübungs- intensitäten visuell einschätzen.	4

Auswertung:

Die Intensität der Trübungen korreliert positiv mit der X-Globulinkonzentration der Serumproben.

Die Trübungsintensitäten der Serumproben werden visuell gegen die des Testserums eingeschätzt.

, (

Anmerkungen:

- Die bereiteten Serumverdünnungen können auch für den GLUKOSE-Siebtest (K 01.2.S) und den GESAMT-EIWEISS-Siebtest (E 01.2.S) eingesetzt werden.
- 2 Als Testseren sind Seren mit Trübungseinheiten an der unteren Normgrenze geeignet.
- 3 Stark lipämische Seren sind für diesen Siebtest nicht geeignet.
- 4 Nach längeren Standzeiten treten gewöhnlich Eiweißausflockungen auf, die schlechter zu beurteilen sind.

Methodenmerkmale:

Methodenbearbeitung:

IaT Eberswalde-Finow, 1976

Proben mit Trübungsdifferenzen von 2 - 3 Einheiten sind (vor allem im unteren Normbereich) deutlich voneinander zu unterscheiden.

Die Eichung von Testseren ist nach der Vorschrift E 03.1 vorzunehmen.

Probenanzahl/Tag • AK:

mind. 500 (Einfachbestimmungen)

Verbindlichkeitstermin:

1. 03. 1979



FERMOGNOST R -GOT-UV-Test:

L-Aspartat reagiert mit 2-Oxoglutarat unter katalytischer Wirkung der GOT zu Oxalazetat und L-Glutamat. Oxalazetat wird danach durch NADH2 in Gegenwart von Malatdehydrogenase (MDH) zu Malat reduziert.

Die Geschwindigkeit der Extinktionsabnahme im UV-Bereich durch Umsetzung von NADH2 zu NAD dient als Maß für die Enzymaktivität (kinetische Messung).

Plasma, Serum (Anmerkung 1)

Reagenzien:

Nr.	Reagenz	Herstellung
1	L-Aspartat-/Tris- Puffer-Lg.	Inhalt der Flasche 510 A in 30 ml dest. Wasser lösen, die in der Arbeitsanleitung des Herstellers vermerkte Menge Salzsäure zugeben und mit dest. Wasser zu 50 ml auffüllen. Haltbark.: max. 28 Tage bei 2 - 5 °C.
2	NADH ₂ -Lg.	Inhalt der Flasche 510 B in 5,0 ml Natriumhydrogenkarbonat-Lg. (1 %ig) lösen. Haltbark.: max. 7 Tage bei 2 - 5 °C.
3	MDH-Lg.	1 VolTeil des Inhalts der Flasche 510 C mit 4 VolTeilen dest. Wasser mischen. Haltbark.: max. 12 Stden. bei 2 - 5 °C.
4	2-0xoglutarat-Lg.	Inhalt der Flasche 510 D in 5,0 ml dest. Wasser lösen. Haltbark.: max. 7 Tage bei 2 - 5 °C.
5	Substrat-Puffer- Gemisch	10 VolTeile L-Aspartat-/Tris-Puffer- Lg., 1 VolTeil NADH2-Lg. und 1 Vol Teil MDH-Lg. mischen. Haltbark.: max. 8 Stden. bei 2 - 5 °C.

Konzentrationen im Testansatz:

	Ausführung A	Ausführung B
L-Aspartat	214 mM	200 mM
Tris-Puffer	107 mM 0.143 mM	100 mM 0.133 mM
MDH 2	750 U/1	700 U/1
2-0xoglutarat	13 mM	12 mM

(R)

Ausführung A (bei Verwendung von SPEKOL mit Meßansatz EK1 bzw. EK5):

	Geräte	Ausführung	Anmer- kungen
1	H-RG	0,900 ml Substrat-Puffer-Gemisch	
		P L St	
2		+ 0,075 ml Plasma (Serum)	
		mischen; 20 Min. bei 37 °C inkubieren (Wasserbad oder Heizblock).	
3		+ 0,075 ml 2-0xoglutarat-Lg.	
		kurz mischen (!).	
4	•	Extinktion von P gegen Wasser bei 366 nm <u>sofort</u> und danach noch 4mal im Abstand von je 120 Sek. bei 37 °C messen (Schichtdicke 1 cm).	2, 3

Berechnung:

- a. Es sind die Differenzen Δ E aus zwei aufeinanderfolgenden Extinktionsmessungen zu berechnen.
 Aus den 4 berechneten Δ E ist der Mittelwert Δ E zu bilden.
- b. $\overline{\Delta E} \cdot 2121 = x U GOT/1000 ml Plasma (Serum) (Anmerkung 6)$

Ausführung B (bei Verwendung von SPEKOL mit Meßansatz EK5-aut und Schreiber (z.B. G1B1)):

	Geräte	Ausführung	Anmer- kungen
1	H-RG	0,900 ml Substrat-Puffer-Gemisch	
2		P L St + 0,150 ml Plasma (Serum) mischen; 20 Min. bei 37 °C inkubieren (Wasserbad oder Heizblock).	
3		+ 0,075 ml 2-0xoglutarat-Lg. kurz mischen (!!).	
4		Extinktion von P bei 366 nm sofort und danach noch 3mal im Abstand von je 1 Min. bei 37 °C messen (Schichtdicke 1 cm).	4 5 7

Berechnung:

- Es sind die Differenzen Δ E aus zwei aufeinanderfolgenden Extinktionsmessungen zu berechnen.
 Aus den 3 berechneten Δ E ist der Mittelwert Δ E zu bilden

1000 3 1000 - 10

FOR THE SECOND OF SECOND O

1. 9.9.00 ml Substrat-Puffer-Gard

U. 150 ml Planns
(Serum)

utechen; on Min. be 37 in hublers (Wasser) or Natabloci

B73 al 2-Orogins ---

rie Borsk men

du hem hading m hadisda m rem o ri

executive on the water and the second to

richidio Lifforenzes d h aus must at rati

THE PROPERTY OF THE GOTTON OF THE PROPERTY AND THE PROPERTY OF THE PROPERTY OF

Anmerkungen:

1 Als Antikoagulanz für die Plasmagewinnung nur Heparin verwenden.

Max. Lagerzeit der Proben bis zur GOT-Bestimmung: Zimmertemp.: 2 Stunden; 2 - 5 °C: 24 Stunden; &-12 °C: 1 Monat (mind.)

- Liegt die Extinktion der ersten Messung des Probeansatzes über 0,700, dann ist ein gesonderter Leeransatz aus 1,0 ml Wasser und 0,075 ml des betreffenden Plasmas (Serums) zu bereiten. Ein Leeransatz wird prinzipiell notwendig bei stark getrübten oder gefärbten Proben.
- Ist ΔE des Prüfansatzes höher als 0,050, dann ist die Plasma-(Serum-)Menge auf 0,050 bzw. 0,025 ml zu reduzieren. Das Ergebnis ist dann mit 1,46 bzw. 2,86 zu multiplizieren.
- Küvettenwechselautomatik: 1 Min.
 Papiervorschub: 20 mm/Min.
 Filter zw. EK5-aut und Zellenhaus: UG2
 Der Meßansatz EK5-aut wird mit 4 Probeansätzen beschickt.
 Ein Leeransatz ist nicht erforderlich.
- Sind ΔE und damit auch ΔE größer als 0,050, dann ist die Plasma-(Serum-)Menge auf 0,075 ml zu reduzieren. Das Ergebnis ist dann mit 1,87 zu multiplizieren.
- Die Faktoren F = 2121 bzw. 2273 wurden errechnet aus der Beziehung:

$$F = \frac{V \cdot 1000}{E_{K} \cdot S}$$

V = Volumen des Probeansatzes in ml

E_K = Extinkt. Koeff. des NADH₂ bei 366 nm = 3,3 cm²/ mol

S = eingesetzte Plasma-(Serum-Menge in ml

7 Küvetten immer in den thermostatierten Meßansätzen belassen. Vermessene Probenansätze mit Wasserstrahlpumpe absaugen!

Aka thikongulees fur die Fleenssertungs pur Heern

Jagardas des Probos biv eur 001-Bestimeun setemp.: 2 Standen: 2 - 8 °C: 14 Stundun; 6-12 °C: 1 Monat (aind

die Srinktich der ereiten Hessung des Probenous it if p. 700, isam ist ein gerond rier Leerst salz aus it insere und 0.075 ml des beitellenden Plaumes (Senuas) eiten. Bim Leersnaat, wird mrinaipiell ofweldt zie gefürbten Proben

fanwednetertomatik: ita Fiorechub: 20 mress. 285-aut u Zollerkare U 2 Canasta I Kheut v : s be:

er fiel en 3, the analytical

e secure (15 mai 1515 - inscribite

- volumer - i columer -

Fill rate 1990 more 19 De pel arkereli

on lower to den thermostet esten dekempt in the termination of the mit Massageric to the termination of termination of the termination of the termination of the term

5 - 42 1

Methodenmerkmale:

Methodenbearbeitung: SVP Berlin, 1975; IaT Eberswalde, 1976

Präzision:

in der Serie:

B % 62,5

(n = 20)

 $s\% \{2,5 \text{ (bei } x = 88 \text{ U/1)}$

von Tag zu Tag: (n = 20)

Probenanzahl/Tag · AK:

nach Ausführung A: mind. 50

(Einzelbestimmungen)

Verbindlichkeitstermin:

1. 03. 1979

promoted fill garmonemis

SVE Borlin, 1978; 201 Blowconing, 1971

53 2 =

304008 201

E - E on) E 3 8 8 8

Throng A: and the column own)

(connumbtable contab

£0 .1

ASPARTATAMINOTRANSFERASE (GOT) (2-Oxoglutarat-Aminotransferase: EC 2.6.1.1)

10.1.5

FERMOGNOST R-GOT-Siebtest:

L-Aspartat reagiert mit 2-Oxoglutarat unter katalytischer Wirkung der GOT zu Oxalazetat und L-Glutamat. Das Oxalazetat wird in einer Indikatorreaktion mit NADH2 zu Malat und NAD umgesetzt. Die Malatdehydrogenase (MDH) wirkt dabei als Katalysator. Beim Siebtest wird nach einer vorgegebenen Inkubationszeit die im Reaktionsgemisch noch vorhandene NADH2-Menge nach UV-Anregung visuell gegen einen Standard eingeschätzt.

Plasma, Serum (Anmerkung 1)

Reagenzien:

Nr.	Reagenz	Herstellung			
1	L-Aspartat-Tris- Puffer-Lg.	Inhalt der Flasche 510 A in 30 ml dest. Wasser lösen, die in der Arbeitsanweisung des Herstellers angegebene Menge Salzsäure zugeben und mit dest. Wasser zu 50 ml auffüllen. Haltbarkeit: max. 28 Tage bei 2 - 5 °C.			
2	NADH ₂ -Lg.	Inhalt der Flasche 510 B in 5 ml Na- triumhydrogenkarbonat-Lg. (1 g/100 ml) lösen. Haltbarkeit: max. 7 Tage bei 2 - 5 °C.			
3	MDH-Lg.	1 VolTeil des Inhalts der Flasche 510 C mit 4 VolTeilen dest. Wasser mischen. Haltbarkeit: max. 12 Stunden bei 2 - 5			
4	2-0xoglutarat-Lg.	Inhalt der Flasche 510 D in 5 ml dest. Wasser lösen. Haltbarkeit: max. 7 Tage bei 2 - 5 °C.			
5	Testlösung	1,0 ml L-Aspartat/Trispuffer-Lg., 0,6 ml NADH2-Lg., 0,2 ml MDH-Lg. und 0,2 ml 2-0xoglutarat-Lg. mischen. Haltbarkeit: max. 3 Stunden bei 2 - 5 oc.			
Konz	Konzentrationen im Testansatz:				
	L-Aspartat: 12 Tris-Puffer: 6	O mM; MDH: 24 Mg			

(1.1.8.2 M 2.6.1.1)

: desidata-Ton-

if printremak

7 2000

E Food

f

Ausführung:

	Geräte	Ausführung	Anmer- kungen
		P St	
7	KAPA- Platte 1	3 µl Plasma 3 µl Testplasma (Serum) (-serum) (gleicher Tierart!)	2
2	KAPA- Platte	+ 12 µl Testlösung	
	2	Platte 2 auf Platte 1 legen. 30 Sek. mischen (Vibrationsmischer) 15 Min. bei Zimmertemperatur ste- hen lassen. Danach Plattenhälften trennen und Reaktionsmischung auf vorbereitetes Filterpapier FN 2 abklatschen; mit Heißluftdusche trocknen.	3
3		Filterpapier unter UV-Lampe be- trachten.	

Auswertung:

Die Fluoreszenzintensität der Spots unter der UV-Lampe ist umgekehrt proportional der GOT-Aktivität in den Proben.

Die einzelnen Spots sind gegen den Testplasma-(-serum)Spot abzuschätzen.

Totale Fluoreszenzlöschung tritt unter diesen Bedingungen bei GOT-Aktivitäten > 85 U/l ein.

Anmerkungen:

- 1 Maximale Lagerzeit der Plasma-(Serum-)Proben bis zur GOT-Bestimmung:
 Raumtemp.: 2 Stunden; 2 5 °C: 24 Stunden; <-12 °C: mind.
 1 Monat.
- 2 Als Testplasma(-serum) ist ein Serum (Plasma) der gleichen Tierart mit einer GOT-Aktivität an der oberen Normgrenze zu verwenden.
- Die angegebenen Reaktionsbedingungen sind geeignet für GOT-Aktivitäten 470 U/l. Bei höheren Normbereichen ist die Inkubationszeit zu verkürzen.

Methodenmerkmale:

Methodenbearbeitung:

IaT Eberswalde-Finow; 1976

Proben mit GOT-Aktivitäts-Differenzen von 4 - 5 U/l sind (in der Umgebung des Normbereichs) deutlich voneinander zu unterscheiden.

Probenanzahl/Tag · AK:

400 - 500 (Einfachbestimmungen)

Verbindlichkeitstermin:

1. 03. 1979

LEUZINAMINOPEPTIDASE (LAP)

(Leuzylpeptidhydrolase; EC 3.4.1.1)

11.1 E

FERMOGNOST (B) -LAP-Test:

Leuzinhydrazid wird durch die LAP hydrolysiert. Das dabei entstandene Hydrazin bildet mit 4-Dimethylaminobenzaldehyd in salzsaurem Milieu einen orangeroten Farbstoff.

Plasma, Serum (Anmerkung 1)

Reagenzien:

	Herstellung
Äthanolamin- Puffer-Lg.	Inhalt der Flaschen 517 A unverdünnt verwenden. Lg. bei 2 - 5 °C aufbewahren.
Leuzinhydrazid-Lg.	Inhalt der Flasche 517 B in 5,0 ml dest. Wasser lösen. Lg. sofort weiterverwenden.
Substrat-Puffer- Gemisch	1 VolTeil Leuzinhydrazid-Lg. mit 4 VolTeilen Äthanolamin- Puffer-Lg. mischen. Mischung sofort einsetzen. Bei <-12 OC ist die Mischung einige Tage haltbar.
4-Dimethylamino- benzaldehyd-Lg.	Inhalt der Flasche 517 C in 18 ml Äthanol (oder Methanol) lösen und mit 300 ml 0,1 N Salzsäure mi- schen. Haltbarkeit: mind. 3 Monate bei 2 - 5 °C.
Hydrazin-Standard- Lg.	1,4 ml Hydrazin-Lg. der Flasche 517 D mit dest. Wasser zu 50 ml auffüllen. Lg. kühl und dunkel aufbewahren.
	Puffer-Lg. Leuzinhydrazid-Lg. Substrat-Puffer- Gemisch 4-Dimethylamino- benzaldehyd-Lg. Hydrazin-Standard-

Konzentrationen im Testansatz:

Äthanolamin-Puffer: (pH: 10,15) 126 mM Leuzinhydrazid: 17.6 mM

'SAI') monacation

Sum office to Pro-

ran resen yan tu tampiankun val edi dauah bulu bisanbysak ar busa kisanadar kasiwa emin-a kisa tehilid atessa essa gitaressasa neromanasa mante mili.

(* production) mess

ein fasamañ

Indest to Plancka pt dibut versum dibut versum dibut 2 ° C unfor-

for anomali web I hadn't man i man i

Alexandrania ling-lov

Fig. 51-8

Exhand for Masord 17 C Arhand focar Merbanol mir 300 ml 1,1) and rohen. Rattberkeit, mins.

> .2.C. clastby I la bul corned less the tre corned less the control

- Prispring o

saskalajaby at fally

a 9.76

n property sta

,

R

Ausführung 1 (für Serienbestimmungen):

	Geräte	Ausführung Anm		
	doravo	11402 4112 4115	kungen	
1	H-RG	P L St O,020 ml - (s. Arbeits- Plasma schritte 1x, (Serum) 2x, 3x)		
		in Eiswasser stellen. + 0,250 ml	3 2 3, 4	
2		+ 2,500 ml 4-Dimethylaminobenzaldehyd-Lg. (+ 0,020 ml Plasma (Serum) nur beim Leer- ansatz!) mischen. 30 Min. bei 37 °C halten.	2	
3		P und L gegen Wasser inner- halb von 6 Stunden bei 455 nm photometrieren.	5	
1 ^X	H-RG	L ^X St 0,020 ml 0,020 ml Wasser Hydrazin- StLg.		
2 ^x		+ 2,500 ml 4-Dimethylaminobenzaldehyd-Lg. mischen. 30 Min. bei 37 °C halten.		
3 ^x		St und L ^X gegen Wasser inner- halb von 6 Stunden bei 455 nm photometrieren.	5	

g

Tr!

(a. Arbeilt Bebritse in. 1200 23

in Elementer relies

La 078.0 + In 078.0 + En 078.0 +

wischen. Genem 11 min. bed 37 ⁹S ir Kassarbed inministern Anschlichend is Biswasser stellen.

e.T. bydeliannedominilydimin. In 007,5 4 (+ 0,020 ml Planna (Serma nun beis La all a

mischen 30 Min vet 37 °C

Track remeal segre I but i fee led absorbe d mos of led .mereleterriche

Z XI

of revive tease

e. 2. 500 na deline the contraction of the Co. 5.

mischen. 30 Min. bel 37 vg belien.

To and I'm corer Wannier trained had the co-

Ausführung 2 (für Einzelbestimmungen):

	Geräte	Ausführung	Anmer- kungen
1	H-RG	0.250 ml Substrat-Puffer-Gemisch	
		5 Min. bei 37 °C im Wasserbad temperieren.	
		P L St	
2		+ 0.020 ml - (s. Arbeits- Plasma schritte 1x, 2x, (Serum) 3x)	2
		mischen. Genau 10 Min. im Was- serbad bei 37 °C inkubieren.	
3		+ 2.500 ml 4-Dimethylaminobenzaldehyd-Lg. (+ 0.020 ml Plasma (Serum) nur beim Leer- ansatz!)	2
		mischen. 30 Min. bei 37 °C halten.	
4		P und L gegen Wasser innerhalb von 6 Stunden bei 455 nm photo- metrieren.	5
leave trials asset with a	which didds didd care that didd care than	L ^X St	
1 ^X	H-RG	0.020 ml 0.020 ml Wasser Hydrazin-StLg.	
2 X		+ 2.500 ml 4-Dimethylaminobenzaldehyd-Lg.	
		mischen. 30 Min. bei 37 °C halten.	
3 ^x		St und L ^X gegen Wasser innerhalb von 6 Stunden bei 455 nm photo- metrieren.	. 5

D somower

Flores I F

pource france

0.250 al Cabatratatatara

Min. bei 37 °C in messerhed

SIED DONE HOUSE WE

t left L - Im 020.0 t eft fullet - Im 020.0 (enre2)

entrology of the body of the control of the body of the control of the body of the control of th

2.500 ml 4-Dimethylenkoher ent

red problem (neros) camais in OSO.O

Machan. 30 Min. of 37

2 urd gen Esecon imperially con photos

0.020 m 020.0

said a blessed ontening death - In 002.2

clacken. TO Min. onl 37 oc

es one

1

Anmerkungen:

- Plasma-(Serum-)gewinnung streng nach Arbeitsvorschrift
 A 02.1 bzw. A 03.1 durchführen. Als Antikoagulanz für die
 Plasmagewinnung nur Heparin verwenden.
 Lagerzeit der Proben bis zur LAP-Bestimmung:
 2 5 °C: max. 24 Stunden; < -12 °C: mind. 1 Monat
 (Nach dem Auftauen sind die Proben sofort zu verarbeiten!).
- 2 | Für jede Probe ist ein gesonderter Leeransatz zu bereiten!
- Das Abkühlen der Probeansätze bewirkt ein starkes Absinken der Geschwindigkeit der Enzymreaktion. Es wird dadurch möglich, größere Probenzahlen unter Routinebedingungen gleichzeitig unter gleichen Reaktionsbedingungen zu bearbeiten und reproduzierbare Ergebnisse zu erhalten. Die bei dieser Arbeitsweise und unter Verwendung der angegebenen Geräte erhaltenen LAP-Aktivitäten liegen ca. 5 % niedriger als nach dem Original-FERMOGNOST-Test (Ausführung 2). Diese Abweichungen wurden in der Berechnungsvorschrift bereits berücksichtigt, so daß nach beiden Ausführungsformen gleiche Endergebnisse erhalten werden!
- Für die Inkubation der Probenansätze bei 37 °C ist ein großvolumiges Wasserbad (Thermostat U 10; Inaktivierungswasserbad) zu verwenden.
- Bei LAP-Bestimmungen in Schweineplasma(-serum) sind die Messungen in 0,5 cm-Küvetten durchzuführen, ansonsten nur, wenn die Extinktionen der Proben außerhalb des Meßbereiches des SPEKOL (Anmerkung 6) liegen.
 Wird auch dann noch der Meßbereich überschritten, dann sind der Plasma-(Serum-) und Hydrazin-St.-Einsatz in gleichem Maße weiter zu verringern. Ein Verdünnen der Proben ist nicht anzuraten.
- Es empfiehlt sich, zur Überprüfung des SPEKOL und zur Festlegung des Meßbereichs eine Eichkurve aufzustellen: 1,4 ml
 Hydrazin-Lg. der Flasche 517 D mit dest. Wasser zu
 10 ml Lg. auffüllen; Lg. schrittweise weiter verdünnen.
 Diese Lösungen werden, wie unter Ausführung 1^x 3^x beschrieben, behandelt. Die Ergebnisse sind graphisch darzustellen. Der Meßbereich ist auf den geradlinigen Teil
 der Eichkurve zu beschränken.

t S. i

· neaments

See Hill Comment

1

Berechnung:

$$\frac{E_{P}-E_{L}}{E_{St}-E_{L}} \quad . \quad F = \times U \text{ LAP/1 000 ml Plasma (Serum)}$$

F (Ausführung 1): 138

F (Ausführung 2): 132

Methodenmerkmale:

Methodenbearbeitung: BIV Erfurt, 1976; IaT Eberswalde-Finow, 1977

Präzision:

Probenanzahl/Tag · AK:

mind. 150 (Einfachbestimmungen)

Verbindlichkeitstermin:

1. 03. 1979

LEUZINAMINOPEPTIDASE (LAP)

(Leuzylpeptidhydrolase, EC 3.4.1.1)

E 11.1.8

FERMOGNOST - LAP-Siebtest:

Leuzinhydrazid wird durch die LAP hydrolysiert. Das dabei ent-standene Hydrazin bildet mit 4-Dimethylaminobenzaldehyd in salzsaurem Milieu einen orangeroten Farbstoff. Beim LAF-Siebtest werden die farbigen Spots der Proben gegen einen Standard-Spot visuell eingeschätzt.

Plasma, Serum (Anmerkung 1)

Reagenzien:

Nr.	Reagenz	Herstellung
1	Äthanolamin-Puffer- Lg.	Inhalt der Flaschen 517 A unver- dünnt verwenden. Aufbewehrung bei 2 - 5 °C.
2	Leuzinhydrazid-Lg.	Inhalt der Flasche 517 B in 5,0 ml dest. Wasser lösen. Lg. frisch weiter verwenden.
3	Testlösung	1 VolTeil Leuzinhydrazld-Ig. und 4 VolTeile Athanolamin- Puffer-Ig. mischen. Mischung umgehend einsetzen oder in Portionen von ca. 1 ml bei \$-12 °C aufbewahren. Haltbarkeit: ca. 1 Woche.
4	Sprüh-Reagenz	Inhalt der Flasche 517 C in 18 ml Äthanol oder Methanol lösen. 1 VolTeil dieser Lg. mit 5 VolTeilen 0,5 N Salzeäure mischen. Lg. bei 2 - 5 °C aufbewahren.

Konzentrationen im Testansatz:

(pH: 10.15) Äthanolamin-Puffer: 90.7 mM

12.7 mM Lauzinhydrazid:

Ausführung:

	Geräte	Ausführung	Anmer- kungen
	KAPA- Platte	O,005 ml Plasma O,005 ml Test- (Serum) plasma (-serum)	2
2	KAPA- Platte 2	+ 0,010 ml Testlösung Platte 2 auf Platte 1 legen. 30 Sek. mischen (Vibrationsmischer). 10 Min. bei Raumtemperatur (20 °C) stehen lassen. Danach Plattenhälften trennen. Reaktionsmischung auf vorbereitetes Filterpapier FN 2 abklatschen. Mit Heißluftdusche trocknen	
	-	Filterpapier mit Sprüh- reagenz beidseitig gleich- mäßig leicht besprühen. Nach ca. 5 Min. orangerote Spots visuell bewerten.	

Auswertung:

Die Farbintensitäten der orangeroten Spots sind proportional den LAP-Aktivitäten in den Proben.

Die Farbintensitäten der einzelnen Spots sind gegen die das Testplasma-(-serum-)Spots visuell abzuschätzen.

The managements

Aserus 0.005 at rest.

O.005 at 21sers 0.005 at rest.

O.005 at 21sers 0.005 at rest.

Platte 2 as Firths

Platte 3 as Firths

(Vibrationemistary),

Issue 3 aserus 1 aserus 1

etalitited der erangeretan Spote sien ereners. De

Tonetteton der einselmen Socke mind gegen 'la -)Spore visuell absorbanen FERMOGNOST R.

Plasma Serum

E 11.1.S

Anmerkungen:

- Als Antikoagulanz bei der Plasmaherstellung nur Heparin verwenden. Lagerzeit der Proben bis zur LAP-Bestimmung: 2 - 5 °C: max. 24 Stunden; 6 - 12 °C: mind. 1 Woche.
- 2 Als Testplasma (-serum) ist ein Plasma (Serum) mit einer LAP-Aktivität an der oberen Normgrenze zu verwenden.
- Die angegebenen Keaktionsbedingungen sind geeignet für einen LAP-Normbereich von 60 200 U/l. Bei niedrigeren Normbereichen ist die Inkubationszeit auf 15 Min. zu verlängern.

Methodenmerkmale:

Methodenbearbeitung:

IaT Eberswalde-Finow, 1976

Proben mit LAP-Aktivitätsdifferenzen von ca. 10 U/l sind (in der Umgebung des Normbereiches) deutlich voneinender zu auter scheiden.

Probenanzahl/Tag · AK:

mind. 500

(Einfachbestimmungen)

Verbindlichkeitstermin:

1. 03. 1979

ALKALISCHE PHOSPHATASE (AP)

(Orthophosphatmonoester-phosphohydrolase; EC 3.1.3.1)

E 12.1

FERMOGNOST R -Farbtest:

4-Nitrophenylphosphat wird unter katalytischer Einwirkung der AP hydrelysiert. Die Farbintensität des entstehenden gelben 4-Nitrophenol ist proportional der Aktivität der AP.

Plasma. Serum (Anmerkung 1)

Reagenzien:

Nr.	Reagenz	Herstellung
· Promo	Glykokoll-Puffer- Lg.	Inhalt der Flasche 518 A mit dest. Wasser auf 100 ml auffüllen. Haltbarkeit: mind. 30 Tage bei 2 - 5 °C.
Secretaria de la composição de la compos	4-Nitrophenylphosphat- Lg.	Inhalt jeder Flasche 518 B in 0,001 N Salzsäure zu 50 ml Lg. lösen. Haltbarkeit: lichtgeschützt mind. 7 Tage bei 2 - 5 °C.
	Nitrophenylphosphat- Puffer-Lg.	Gleiche Volumina Glykekoll-Puffer- Lg. und Witrophenylphosphat-Lg. mischen. Haltbarkeit: max. 12 Stunden bei 2 - 5 °C.
4	Natronlauge (0,02 N)	2,0 ml N Natronlauge mit dest. Wasser zu 100 ml Lg. auffüllen.
5	4-Nitrophenol- Standard-Lg.	a) 10 ml Inhalt der Flasche 518 C mit dest. Wasser zu 25 ml auf- füllen. Haltbarkeit: lichtgeschützt mind. 30 Tage bei 2 - 5 °C.
		b) 1,0 ml Lg. a) mit 1,0 ml Natronlauge mischen (= 100 U AP/1).
Kon	zentrationen im Testanse Glykokoll-Puffar: 4-Nitrophenylphosphat: Magnesiumchlorid:	45,5 mM (pH 10,4) 4,15 mM



ALKALISCHE PHOSPHATASE (AP)

FERMOGNOST R-Farbtest

Plasma Serum

E 12.1

Ausführung 1 (für Serienbestimmungen):

	Geräte	Ausführung	Anmer- kungen
		P L St	
1	H-RG	O,02 ml O,02 ml O,02 ml Plasma dest. Nitrophenol- (Serum) Wasser StandLg. b)	2
		3 Min. in Eiswasser stellen.	3
2		+ 0,20 ml Nitrophenylphosphat-Puffer-Lg. (eisgekühlt)	
		Genau 30 Min. bei 37 °C inku- bieren, anschließend in Eis- wasser stellen (5 Min.).	3, 4
3		+ 2,00 ml Natronlauge	
		mischen.	
4		P und St gegen L innerhalb von 2 Stunden bei 405 nm photo- metrieren.	5

Ausführung 2 (für Einzelbestimmungen):

	Geräte	Ausführung	Anmer- kungen
1	H-RG	0,20 ml Nitrophenylphosphat-Puffer-Lg. 5 Min. bei 37 °C im Wasserbad temperieren.	
		P L St	
2		+ 0,02 ml + 0,02 ml + 0,02 ml Plasma dest. Nitrophenol- (Serum) Wasser StandLg. b)	2
		mischen. Genau 30 Min. bei 37 °C inku- bieren.	
3		+ 2,00 ml Natronlauge	
		mischen.	
4		P und St gegen L innerhalb von 2 Stunden bei 405 nm photo- metrieren.	5



Anmerkungen:

- Plasma-(Serum-)Gewinnung streng nach Arbeitsvorschrift
 A 02.1 bzw. A 03.1 durchführen.
 Als Antikoagulanz für die Plasmagewinnung nur Heparin verwenden.
 Lagerzeit der Plasma-(Serum-)Proben bis zur AP-Bestimmung:
 Zimmertemperatur: max. 6 Stunden; 2 5 °C: max. 48 Stunden;
 12 °C: mind. 2 Monate.
- Bei ikterischen oder getrübten Proben ist ein gesonderter Leeransatz L* für jede Probe zu bereiten: Anstelle von 0,02 ml Wasser (Arbeitsschritt 1) ist nach der Zugabe von Natronlauge (Arbeitsschritt 3) 0,02 ml Plasma (Serum) zuzufügen. Man photometriert dann zweckmäßig alle Ansätze gegen Wasser.
- Das Abkühlen der Probeansätze bewirkt eine Verminderung der Geschwindigkeit der Enzymreaktion. Es wird âadurch möglich, eine größere Probenanzahl unter Routinebedingungen gleichzeitig und unter gleichen Reaktionsbedingungen zu bearbeiten und reproduzierbare Ergebnisse zu erhalten. Die bei dieser Arbeitsweise erhaltenen AP-Aktivitäten liegen um weniger als 2 % niedriger als nach dem Original-FERMOGNOST Test, wenn die angegebenen Geräte verwendet werden. Diese geringen Abweichungen wurden in der Berechnungsvorschrift nicht berücksichtigt.
- Für die Inkubation der Probeansätze bei 37 °C ist ein großvolumiges Wasserbad (Thermostat U 10, Inaktivierungswasserbad WABA 160 oder 240) zu verwenden.
- Liegt die Extinktion der Proben außerhalb des Meßbereiches des SPEKOL (Anmerkung 6), dann sind die Messungen in 0,5-cm-Küvetten zu wiederholen. Wird der Meßbereich auch dann noch überschritten, so ist die Bestimmung mit verringerter Inkubationszeit (10 bzw. 5 Min.) zu wiederholen. Das Berechnungsergebnis ist dann mit 3 bzw. 6 zu multiplizieren.
- Zur Festlegung des Meßbereiches des SPEKOL ist eine Eichkurve aufzustellen. Dazu werden 1,0, 2,0, 3,0, 5,0, 7,5 ml 4-Nitrophenol-Stand.-Lg. a) mit Natronlange auf 10 ml aufgefüllt (= 20, 40, 60, 100, 150 U AP/1). Diese Lösungen werden, wie unter "Ausführung" beschrieben, anstelle von Plasma (Serum) eingesetzt und gegen L photometriert. Die Extinktionen sind gegen U/1 graphisch darzustellen. Der Meßbereich ist auf den geradlinigen Teil der Eichkurve zu beschränken.

Berechnung:

Für Ausführung 1 und Ausführung 2:

$$\frac{E_{P}}{E_{St}} \cdot 100 = x U AP/1 000 ml Plasma (Serum)$$

Bei ikterischen oder getrübten Proben:

$$\frac{(E_P - E_L x)}{(E_{St} - E_L)}$$
 • 100 = x U AP/1 000 ml Plasma (Serum)

Methodenmerkmale:

SVP Berlin, 1975 IaT Eberswalde-Finow, 1976 Methodenbearbeitung:

Präzision:

in der Serie (n = 20) s % 6 3,0

s % $\frac{4.0}{\text{(bei } \bar{x} = 64 \text{ U/1)}}$ von Tag zu Tag: (n = 20)

Probenanzahl/Tag · AK: mind. 150 (Einfachbestimmungen)

Verbindlichkeitstermin: 1. 03. 1979



ALKALISCHE PHOSPHATASE (AP)

(Orthophosphatmonoester-phosphohydrolase; EC 3.1.3.1)

E 12.1.S

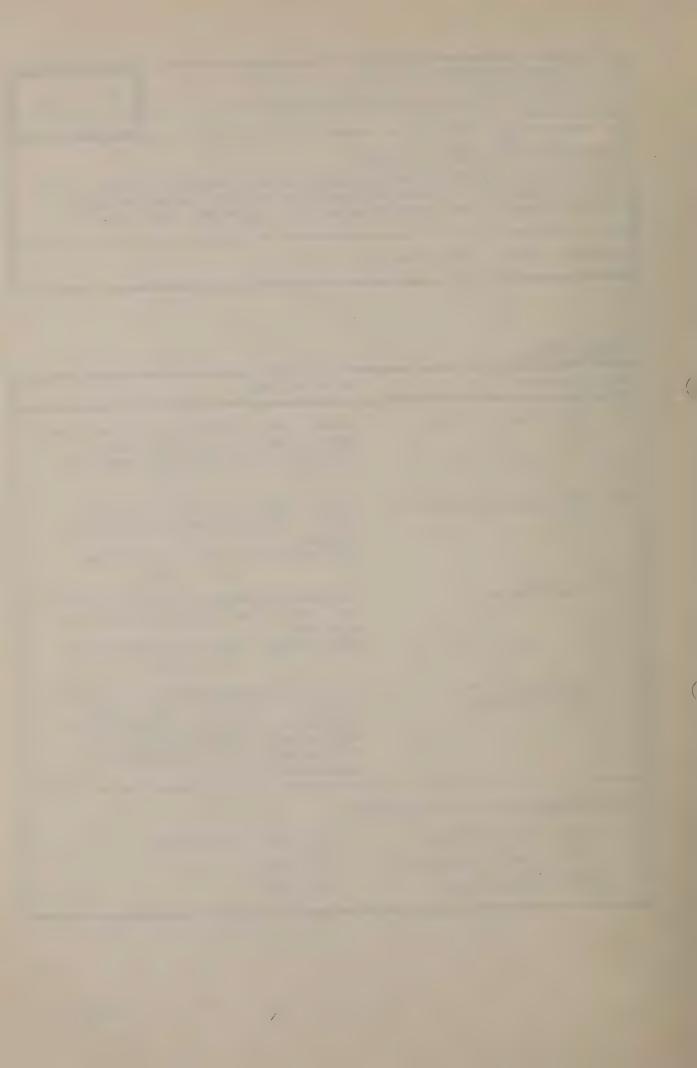
FERMOGNOST R -Farb-Siebtest:

4-Nitrophenylphosphat wird unter katalytischer Wirkung der AP hydrolysiert. Die Farbintensität des entstehenden gelben 4-Nitrophenols ist proportional der Aktivität der AP.

Plasma, Serum (Anmerkung 1)

Reagenzien:

Nr.	Reagenz	Herstellung
1	Glykokoll-Puffer- Lg.	Inhalt der Flasche 518 A mit dest. Wasser zu 100 ml auffüllen. Haltbarkeit: mind. 30 Tage bei 2 - 5 °C.
2	Nitrophenylphosphat- Lg.	Inhalt jeder Flasche 518 B in 0,001 N Salzsäure zu 50 ml Lg. lösen. Haltbarkeit: mind. 7 Tage bei 2 - 5 °C.
3	Testlösung	Gleiche Volumina Glykokoll-Puffer- Lg. und Nitrophenylphosphat-Lg. mischen. Haltbarkeit: max. 12 Stunden bei 2 - 5 °C.
4	Alkalisiertes Filterpapier	4 g Natriumhydroxyd p. a. in dest. Wasser zu 1 000 ml Lg. lösen Mit dieser Lg. Filterpapier FN 2 beidseitig besprühen und anschließend im Trockenschrank trocknen.
Konz	entrationen im Testansa	t <u>z</u> :
	Glykokoll-Puffer: Nitrophenylphosphat: Magnesiumchlorid:	33,3 mM (pH: 10,4) 3,0 mM 0,32 mM



Ausführung:

	Geräte	Ausführung	Anmer- kungen
1	KAPA- Platte	P St O,005 ml Plasma O,005 ml Test- (Serum) plasma (-serum)	2
2	KAPA- Platte 2	Platte 2 auf Platte 1 legen. 30 Sek. mischen (Vibrations- mischer). 20 Min. bei Raumtemperatur (20 °C) stehen lassen. Danach Plattenhälften tren- nen. Reaktionsmischung auf alka- lisiertes Filterpapier FN 2 abklatschen und mit Heiß- luftdusche kurz antrocknen.	
3		Gelbe Spots (noch feucht!) im Durchlicht visuell bewerten.	

Auswertung:

Die Farbintensität der gelben Spots ist proportional der AP-Aktivität in den Proben.

Die Farbintensitäten der einzelnen Spots sind gegen die des Testplasma-(-serum-)Spots visuell abzuschätzen.

ha been again a be p

2

3,007 al Fishers 0,005 at 10 700.5

EL FOISE ST CO.

paredited in 010.0

Thursday,

re s.m () MIN OS

Tilmus Tistesumeltr

er males

THITOTREE RATE PROBLEM

a ar an groud anist

Sibberoiti der gelben Snote ist proportional na

re pre group bala chook nonforthe tek noththenette

Mr. Co. Ser.

,

ALKALISCHE PHOSPHATASE (AP)

FERMOGNOST R -Farb-Siebtest

Plasma Serum

E 12.1.S

Anmerkungen:

- Als Antikoagulanz bei der Plasmagewinnung nur Heparin verwenden.

 Lagerzeit der Proben bis zur AP-Bestimmung:

 Raumtemperatur: max. 6 Stunden; 2 5 °C: max. 48 Stunden;

 Lagerzeit der Proben bis zur AP-Bestimmung:

 A 12 °C: mind. 2 Monate.
- Als Testplasma (-serum) ist ein Plasma (Serum) mit einer AP-Aktivität an der oberen Grenze des Normbereiches geeignet.
- Die angegebenen Reaktionsbedingungen gelten für AP-Aktivitäten bis 100 U/l. Bei höheren Aktivitäten ist die Inkubationszeit auf 10 Min. zu beschränken.

Methodenmerkmale:

Methodenbearbeitung:

IaT Eberswalde-Finow, 1976

Proben mit AP-Aktivitätsdifferenzen von 5 bis 8 U/l sind (in der Umgebung des Normbereiches) deutlich voneinander zu unterscheiden.

Probenanzahl/Tag • AK:

mind. 500 (Einfachbestimmungen)

Verbindlichkeitstermin:

1. 03. 1979

is full hosgulars bol des samagrainens nur Heparin vonmiden.

Troben bis sur AP-Bestingung:

ant sturt men. b Standen: 8 = 5 °C: mer. 48 sturdes;

. " OG: m.od. 2 Nonete.

roni fim (marof) campil nie foi (mores) ei a en der oberen Grenze des Normbersiches ge-

100 U/1. Bel hüheren Aktivitäten ist die naupnetit aus 100 U/1. Bel hüheren Aktivitäten ist die naupnetit aus 10 Min. za benchränken.

: gautison

lef Eberevelde-Flace, ?

Aktivi Stadifferensen von 5 bis G U/1 sand tel des Mormboreiches) deutlich voneinebart za untar-

rinisabbestingungen)

3

The second secon

ALKALISCHE PHOSPHATASE (AP)

(Orthophosphatmonoester-phosphohydrolase; EC 3.1.3.1)

E 12.2

Kinetischer Test (modifizierter FERMOGNOST R -AP-Test):

Die Hydrolyse von 4-Nitrophenylphosphat wird durch die AP katalysiert. Die Farbintensität des entstehenden gelben 4-Nitrophenols ist proportional der Aktivität der AP.

Beim kinetischen Test werden die Lösungen des FERMOGNOST R -AP-Farbtest verwendet. Er ist dem Original-FERMOGNOST R-AP-Farbtest vorzuziehen.

Achtung! Bei Bilirubin-Konzentrationen im Plasma bzw. Serum

Achtung! Bei Bilirubin-Konzentrationen im Plasma bzw. Serum oberhalb des Normbereichs ist die Methode E 12.1 anzuwenden!

Plasma, Serum (Anmerkung 1)

Reagenzien:

Nr.	Reagenz	Herstellung			
1	Glykokoll-Puffer-Lg.	Inhalt der Flasche 518 B mit dest. Wasser auf 100 ml auffüllen. Haltbarkeit: mind. 30 Tage bei 2 - 5 °C			
2	4-Nitrophenylphosphat- Lg.	Inhalt jeder Flasche 518 B in 0,001 N Salzsäure zu 50 ml Lg. lösen. Haltbarkeit: lichtgeschützt mind. 7 Tage bei 2 - 5 °C.			
3	Nitrophenylphosphat- Puffer-Lg.	Gleiche Volumina Glykokoll-Puffer- Lg. und Nitrophenylphosphat-Lg. mischen. Haltbarkeit: max. 12 Stunden bei 2 - 5 °C.			
Konz	zentrationen im Testansatz	2:			
	Glykokoll-Puffer:	48,0 mM (pH 10,4)			
	4-Nitrophenylphosphat: 4,37 mM				
	Magnesiumchlorid:	0,46 mM			

Ausführung:

	Geräte	Ausführung	Anmer- kungen
1	H-RG	1,00 ml Nitrophenylphosphat- Puffer-Lg. 5 Min. im Wasserbad (37 °C) erwärmen.	
2		P L St + 0,04 ml Plasma (Serum) mischen. Mischung sofort in temperierte (37 °C) 1-cm- Küvetten überführen.	2, 3
		Extinktion von P gegen Wasser bei 405 nm sofort und danach noch dreimal im Abstand von 1 Min. bei 37 °C messen.	4

Berechnung:

- a) Es sind die Differenzen & E aus zwei aufeinanderfolgenden Extinktionsmessungen zu berechnen.

 Aus den drei berechneten & E ist der Mittelwert & E zu bilden.
- b) $\Delta E \cdot F = x U AP/1 000 ml Plasma (Serum)$

	Plasma-	(Serum-)Ei	nsatz		
	0,040 ml 0,020 ml 0,010 ml				
F	1 398	2 7 42	5 430		

(Anmerkung 4)

Anmerkungen:

5

1 Plasma-(Serum-)Gewinnung streng nach Arbeitsvorschrift A 02.1 bzw. A 03.1 durchführen.

Als Antikoagulanz für die Plasmagewinnung nur Heparin verwenden.

Lagerzeit der Proben bis zur AP-Bestimmung: Zimmertemperatur: max. 6 Stunden; 2 - 5 °C: max. 48 Stunden; **4** - 12 °C: mind. 2 Monate.

2 Achtung! Mikroliterpipetten vor Verwendung eichen und täglich überprüfen!

Bei AE > 0,15 (s. Abschnitt "Berechnung") ist der Plasma-(Serum-)Einsatz auf 0,020 bzw. 0,010 ml zu reduzieren.

Der Meßansatz muß mit einem Umwälzthermostaten temperiert werden. Es empfiehlt sich die Verwendung des Meßansatzes EK 5-aut, der das Vermessen von 3 Proben (und 1 Leerwert) nebeneinander, bzw. des Meßansatzes EK 5-aut in Verbindung mit der Küvettenwechselautomatik und dem Schreiber G1B1, der das Vermessen von 4 Proben (Leerwert kann entfallen) nebeneinander gestattet.

Meßeinstellung:

SPEKOL mit Meßansatz EK 5-aut und Küvettenwechselautomatik
Photozelle mit Graufilter 10 %
Wechselautomatik: 1 Min.
Papiervorschub (G1B1): 2 cm/Min.

Der Faktor F errechnet sich aus der Beziehung:

$$\mathbf{F} = \frac{\mathbf{v} \cdot 100}{\mathbf{E}_{\mathbf{K}} \cdot \mathbf{S}}$$

V = Volumen des Probenansatzes

 E_{K} = Molarer Extinktionskoeffizient des Nitrophenol bei 405 nm (18,6 cm² · Mol⁻¹)

S = eingesetzte Plasma-(Serum-)Menge in ml .

3

rime hardanan bireng asab Arbelteroschrift . A 63.1 durchführen. - ulana für ise Alesseses nunn aur seerin

strent der Proben bis zur AF-Bestimmung:
erkem estur: mex. 6 Stunden: 2 - 0 00: nex. 3 cuncen

Milroliterpi eften vor Vermendung eichen und bag-

0, 15 (e. fonchait "Herechausa") ist let Plu en landtz auf 0,020 bew. 0,010 al co reducteren.

casels mus mit einem Unwälzthermoetasa temsergere es empfächit eich die Verwendung des kedensatze; der des Vermeesen von 3 Proben (und ' bearwer - 115 der bewert bew. des Mesangetass II 5-sut in Verbidhunde: Miver terweonse lautomatik find den Schreiber 1151 der Vermeesen von d Proben (bearwert kann entfallen) nander gest biet.

ter ver JSPEKOl mit Wesomenter If Swant und Elimettsinwochselautometik Photogelle mit Granvilter 10 5 Wechselantomatik i die Fapiervorschub (GTB1): 2 om/Wis-

and February ste sus desidents Trot

1811 28

Volumen des Probensatzes

Molerer Extinktionskoefficient Jos Altrophenol bet 400 nm (18.6 cm - 30)

to ol opnet (-muse) -small etzisesii

Methodenmerkmale:

Methodenbearbeitung: IaT Eberswalde-Finow, 1977

Präzision:

in der Serie: (n = 20)

s % 🕻 3,0

von Tag zu Tag: (n = 20)

s % 4,0 (bei $\bar{x} = 64 \text{ U/l}$)

Probenanzahl/Tag · AK:

mind. 150

(Einfachbestimmungen)

Verbindlichkeitstermin: 1. 03. 1979

lat Bbergmaldo-Minor, 197

3,5 3 8 6

ning . The

'E Edina', Augosju H

1979 - La 03 . 1979

1

LEUCINARYLAMIDASE (EC. 3.4.11.2.)

E 13.1

Kinetischer Test:

Die Leucinarylamidase katalysiert die Hydrolyse von Leucylarylamiden. Die Bestimmung basiert auf der Spaltung von Leucin-pnitranilid. Das pro Zeiteinheit gebildete gelbe p-Nitranilin ist der Enzymaktivität proportional.

Serum, Plasma (Anmerkung 1)

Reagenzien:

Nr.	Reagenz	Konz.	Herstellung			
1	Phosphatpuffer (pH: 7,2)	0,05 M	a. 6,8 g KH2PO ₄ m. dest. H ₂ O zu 1 000 ml Lg. lösen. b. 8,9 g Na ₂ HPO ₄ · 2H ₂ O (oder 17,9 g Na ₂ HPO ₄ · 12H ₂ O) mit dest. H ₂ O zu 1 000 ml Lg. lösen.			
			c. 726 ml Lg. b u. 274 ml Lg. a mischen. pH-Wert mit Glaselektrode kontrollieren.			
2	Leucin-p- nitranilid	0,025 M	63 mg Leucin-p-nitranilid in Methanol p.a. zu 10 ml Lg. lösen.			
			Haltbarkeit: 6 Monate licht- geschützt bei 2 - 5 °C.			
3	Substrat- Puffer-Lg.		25 ml Puffer-Lg. und 1 ml Leucin-p-nitranilid-Lg. mi- schen. Haltbarkeit: 1 Tag.			
<u>Kor</u>	Konzentrationen im_Testansatz:					
	Phosphatpuffer: Leuzin-p-nitranili	.d:	43,7 mM 0,87 mM			

OLDS ALBOASSES

grand Teriosia

Intiles to the section of the sectio

(Ammericana) 1)

month of seal to the

byuffer 0.05 W a. 6.8 m Milero, ma dema, tot

TT.9 a MacHing 1211; 121

e. 725 ml bg, b a. 274 ml Le. w mischen, pH-Eber Glaumiskrode gentum.

f: Example-q-aloued gm 60 H 650.

Heltharkeit: 6 Honata

25 al Piffor-La, upi Leucla-p-nitrani 1-la soban Hal berkeit: 1 Tag

: wieremiaal mi nancitaid

instinction

: bilideri

Ma Talk

9521E

Ausführung:

	Geräte	Ausführung	Anmer- kungen
1	H-RG	1,000 ml Substrat-Puffer-Lg.	
		5 Min. auf 37 °C temperie- ren.	
		P L St	
2		+ 0,100 ml	
4		kurz mischen und in vor- temperierte Küvette (Schichtdicke 1 cm) über- führen.	
3		Extinktion von P gegen Wasser bei 405 nm sofort und danach noch 3mal im Abstand von 1 Min. (bei 37 °C!) messen.	

Berechnung:

- a. Es sind die Differenzen ΔE aus zwei aufeinanderfolgenden Messungen zu berechnen. Aus den 3 berechneten ΔE ist der Mittelwert ΔE zu bilden.

Anmerkungen:

1 Max. Lagerzeit der Proben bis zur Enzym-Aktivitäts-Bestimmung:
Bei 2 - 5 °C: Mind. 24 h; <-12 °C: 1 Monat (mind.)

Als Antikoagulanz bei der Plasmagewinnung ist Heparin zu

verwenden.

- Sind ΔE und damit auch ΔE größer als ca. 0,1, dann ist die Serum-(Plasma-)menge auf 0,050 bzw. 0,020 ml zu reduzieren (In diesen Fällen ist bei der Berechnung ΔE mit den Faktoren F = 2 119 bzw. F = 5 146 zu multiplizieren.) oder die Proben sind mit physiologischer Kochsalzlösung (1 Teil Serum (Plasma) + 9 Teile phys. Kochsalzlg.) zu verdünnen (Berechnungsergebnis mit dem Faktor 10 multiplizieren!).
- Bei größeren Serien empfiehlt sich die Verwendung des Meßansatzes EK 5-aut, der das Vermessen von 4 Proben nebeneinander gestattet. In jedem Fall muß der Meßansatz mit einem Umwälzthermostaten genau temperiert werden.
- 4 Der Faktor F = 1 110 (bzw. 2 119 bzw. 5 146) errechnet sich aus der Beziehung:

$$F = \frac{V \cdot 1 000}{E_K \cdot S}$$

V = Volumen des Probenansatzes in ml.

E_K = Molarer Ext.-Koeff. des p-Nitranilins bei 405 nm

 $= 9.91 \text{ cm}^2/\text{ Mol}$.

S = eingesetzte Serum-(Plasma-)menge in ml.

.

LEUCINARYLAMIDASE	Kinetischer Test	Serum,	Pla
-------------------	---------------------	--------	-----

sma

E 13.1

Methodenmerkmale:

Methodenbearbeitung: IaT Eberswalde-Finow; 1978				
Präzision: in der Serie:	s % (3,0			
(n = 20)				
von Tag zu Tag: (n = 18)	s % \(13,0 \) (bei \(\overline{x} = 11 U/l \)			
Probenanzahl/Tag · AK:	mind. 70 (Einfachbestimmungen)			

Verbindlichkeitstermin: 1. 03. 1979 0,6 3 8 6

2,8 3

Find and description

in from panal freed

Y-GLUTAMYL-TRANSPEPTIDASE (Y-GT) (EC 2.3.2.2.)

14.1

Kinetischer Test:

dung von & -Glutamyl-glycylglyzid u. p-Nitranilin bei kataly-tischer Wirkung der & -GT. Das pro Zeiteinheit entstehende p-Nitranilin ist der Enzymaktivität proportional.

Serum (Anmerkung 1)

Reagenzien:

Nr.	Reagenz	Konz.	Herstellung
1	Tris-Puffer (pH: 8,25)	200 mM	12,114 g Tris (hydroxymethyl)- aminomethan in 400 ml dest. Wasser lösen. pH-Wert mit 1 N Salzsäure auf 8,25 einstellen (Glaselektrode!); zu 500 ml Lg. auffüllen.
2	Substrat-Puffer- Lg.		126,2 mg &-Glutamyl-p-nitra- nilid in ca. 75 ml Tris-Puffer bei 50 - 60 °C lösen, 727,0 mg Glycylglycin zugeben; mit Tris- Puffer auf 100 ml auffüllen. Haltbarkeit: ca. 2 Monate bei -10 oC. Evtl. Ausflockungen sind durch Erwärmen der Lg. auf 56 °C zu lösen. (Anmerkung 2)
Kon	nzentrationen im Tes	tansatz:	
	Tris-Puffer:		182. mM
	% -Glutamyl-p-nitra	nilid:	4,3 mM
	Glycylglycin:		50 mM

sheet neder

fts parau (rindrived) for trainer biliamo -inmat en les primarolles on bisylatyopin-lymatri - Y m elmanes one diamaioriel ong and 100- and -landarona rabiyahahana meb'oni ul

(F SALLEMEN

MANUAL MA

is the second common to the se

126.2 on 1-614 miles

The first of the color

Exists out the color

Baltberief of the color

Color of the col

Same and the same of the same

in feetage at

5.7 551

Rm E.A : Adding

5

Ausführung:

	Geräte	Ausführung	Anmer- kungen
1	H-RG	1,000 ml Substrat-Puffer-Lg.	
		5 Min. auf 37 °C tempe- rieren.	
		P L St	
2		+ 0,100 ml Serum	
ì		kurz mischen und in vor- temperierte Küvette (Schichtdicke 1 cm) über- führen.	
3		Extinktion von P gegen Wasser bei 405 nm sofort und danach noch 3 x im Abstand von 1 Min. (bei 37 OC) messen.	

Berechnung:

- a. Es sind die Differenzen Δ E aus zwei aufeinanderfolgenden Messungen zu berechnen. Aus den 3 berechneten Δ E ist der Mittelwert Δ E zu bilden.
- b. $\Delta E \cdot 1 \ 110 = x \ U \ g GT/1 \ Serum$

Anmerkungen:

- Max. Lagerzeit der Serumproben bis zur / -GT-Bestimmung: Zimmertemp.: 5 Tage; 2 5 °C: 1 Monat; < -12 °C: 2 Monate (mind.)
- Bei Verwendung des LACHEMA-Testbestecks wird die Substrat-Puffer-Lg. wie folgt angesetzt: 1 Tablette & -Glutamyl-p-nitranilid in ca. 15 ml Tris-Puffer bei 50 - 60 °C lösen (Tablette dabei zerstoßen), 2,22 ml Glycylglycin-Lg. zugeben und mit weiterem Tris-Puffer auf 22,2 ml auffüllen.
- Sind & E und & E größer als ca. 0,1, dann ist die Serum-3 menge auf 0,050 bzw. 0,020 ml zu reduzieren (In diesen Fällen ist bei der Berechnung Δ E mit den Faktoren F = 2 119 bzw. F = 5 146 zu multiplizieren) oder die Proben sind mit physiol. Kochsalzlg. (1 Teil Serum + 9 Teile phys. Kochsalzlg.) zu verdünnen (Berechnungsergebnis mit dem Faktor 10 multiplizieren!).
- Bei größeren Serien empfiehlt sich die Verwendung des 4 Meßansatzes EK 5-aut, der das Vermessen von 4 Proben nebeneinander gestattet. In jedem Fall muß der Meßansatz mit einem Umwälzthermostaten genau temperiert werden.
- Der Faktor F = 1 110 (bzw. 2 119 bzw. 5 146) errechnet sich aus der Beziehung:

$$F = \frac{V \cdot 1000}{E_K \cdot S}$$

= Volumen des Probenansatzes in ml.

E_K = Molarer Ext.-Koeff. des p-Nitranilins bei 405 nm 9,91 cm²/ Mol.

S = eingesetzte Serummenge in ml.

Methodenmerkmale:

Methodenbearbeitung:

IaT Eberswalde-Finow; 1978
SVP Berlin; 1977

BIV Rostock; 1978

Präzision:

in der Serie: (n = 10) 8 % ≤ 4.6

von Tag zu Tag: (n = 17)

s % \(\) 10,8 \(\) (bei x = 19 U/1)

Probenanzahl/Tag · AK:

mind. 70 (Einzelbestimmungen)

Verbindlichkeitstermin:

1. 03. 1979

Tel Ebermandia-Flaor; 1976 SVE Berlin: 1977 SIV Rostook: 1978

nesquemined (secta)

and or refer

03. 1975

KREATINKINASE (CPK) (EC 2.7.3.2)

E 15.1

FERMOGNOST R -CPK-Test:

Die CPK katalysiert die Bildung von Kreatinphosphat aus Kreatin und ATP. Nach Beendigung der Inkubationszeit wird das gebildete Kreatinphosphat im sauren Milieu hydrolysiert und das entstandene Phosphat nach Umsetzung zu Molybdatophosphat und dessen Reduktion zu Molybdänblau photometrisch bestimmt.

Serum, Plasma (Anmerkung 1)

Reagenzien:

Nr.	Reagenz	Herstellung
1	ATP-Lg.	Inhalt der Flasche 514 B in 50 ml dest. Wasser lösen. Aufbewahrung in Glasflasche! Haltbarkeit: max. 3 Wochen bei 2 - 5 °C.
2	Kreatin-ATP-Lg.	Inhalt der Flasche 514 A in 25 ml ATP-Lg. lösen. Aufbewahrung in Glasflasche! Haltbarkeit: max. 3 Wochen bei 2 - 5 °C. (Evtl. krist. Niederschlag vor Gebrauch durch Erwärmen auf max. 40 °C in Lösung bringen.)
3	Thioglykolsäure- Lg.	0,1 ml Thioglykolsäure (80 %) mit dest. Wasser zu 10 ml auffüllen. Haltbarkeit: max. 3 Wochen bei 2 - 5 °C.
4	Trichloressigsäure- Lg. (TCE-Lg.)	40 g Trichloressigsäure p.a. in dest. Wasser zu 250 ml Lg. lösen.
5	Natriumselenit- Lg.	Inhalt der Flasche 514 C in 25 ml TCE-Lg. lösen. Haltbarkeit: max. 3 Wochen
6	Molybdat-Lg.	Inhalt der Flasche 514 D in 200 ml TCE-Lg. lösen.
7	Aminonaphthol- sulfonsäure- Sulfit-Lg.	Inhalt der Flasche 514 E mit 15 ml dest. Wasser versetzen. Mischung am nächsten Tag filtrieren. Filtrat weiterverwenden. Haltbarkeit: 2 Wochen bei 2 - 5 °C.
		Fortsetzung Blatt 2

KREA	TINKINASE
	(CPK)

FERMOGNOST R-CPK-Test

Serum, Plasma

E 15.1

Reagenzien: (Fortsetzung)

	8	Molybdat- Reduktionslg.	200 ml Molybdat-Lg. und 8 ml Amino- naphtholsulfonsäure-Sulfit-Lg. mischen Haltbarbeit: 1 Woche bei 2 - 5 °C (!!) (lichtgeschützt).
l	9	Phosphat- Standard-Lg.	1,6 ml des Inhalts der Flasche 514 F mit dest. Wasser zu 10 ml auffüllen.
	10	Inaktiviertes Serum	(Schweine-, Rinder-)Serum 2 Stunden auf 56 °C erwärmen. Oder: SERULAT PK I zur Präzisionskon- trolle verwenden.

Konzentrationen im Testansatz:

Kreatin:	76	mM	Mg ²⁺ :	6,5	
ATP:	4,3	mM	Thioglykolsäure:	9,9	mM
Tris-Puffer:	109	MM			

An official

A THE REST OF

~181

coffeels rv

te piocelle : Placels 314

(Schweine-, Finder-)Serum 2 1071
und 56 Fig erwärmen.
)der: Sindlat Fil zur Fräsisionet

Re P.3

1

(R)_

Ausführung:

Probenansätze

	Geräte	Ausführung	Anmer- kungen
		P	
1	PA	0,040 ml Plasma 0,040 ml Plasma (Serum)	5
		in Eiswasser stellen (5 Min.). + 0,360 ml Kreatin- + 0,360 ml ATP-Lg. ATP-Lg. (eisgekühlt) (eisgekühlt)	2 , 4
2		+ 0,040 ml Thioglykolsäure-Lg.	
		mischen; genau 30 Min. bei 37 ^O C inkubieren; danach sofort in Eiswasser stellen.	2, 3
3		+ 0,200 ml Natriumselenit-Lg.	
		mischen; zentrifugieren.	
4	H-RG	1,000 ml Molybdat-Reduktionslg. + 0,400 ml Überstand	
		mischen.	
5		P und L nach 30 Min., aber in- nerhalb von 60 Min., bei 720 nm gegen Wasser photometrieren.	6
		Fortsetzung Blatt	4



Ausführung (Fortsetzung): Standardansatz

	Geräte	Ausführung	Anmer- kungen
		St L	
1	PA	0,040 ml Phosphat- 0,040 ml dest. Wasser StandLg.	
2		+ 0,400 ml dest. Wasser + 0,200 ml Natriumselenit-Lg.	
		mischen.	
3	H-RG	1,000 ml Molybdat-Reduktionslg. + 0,400 ml Mischung aus 2	
!		mischen.	
4		St und L nach 30 Min., aber innerhalb von 60 Min., bei 720 nm gegen Wasser photometrieren.	

Berechnung:

$$\frac{E_P - E_L}{E_{St} - E_L}$$
. 53,3 = x U CPK/1 000 ml Plasma (Serum)

energy : Bendardans to

53,3 = 2 U SPK/1 OUO ET PLANE (Lating).

(Angericum; 6)

Anmerkungen:

KREATINKINASE

(CPK)

1 Als Antikoagulanz bei der Plasmagewinnung nur Heparin verwenden.

(R)

- Max. Lagerungszeit der Proben bis zur CPK-Bestimmung: 2 5 °C: 4 Tage; <-12 °C: mind. 1 Monat
- Das Abkühlen der Probeansätze bewirkt eine Verminderung der Geschwindigkeit der Enzymreaktion. Es wird dadurch möglich, eine größere Probenanzahl unter Routinebedingungen gleichzeitig und unter gleichen Reaktionsbedingungen zu bearbeiten u. reproduzierbare Ergebnisse zu erhalten. Die bei dieser Arbeitsweise erhaltenen CPK-Aktivitäten liegen um weniger als 2 % niedriger als nach dem Original-FERMOGNOST (R) Test, wenn die angegebenen Geräte verwendet werden.
- Für die Inkubation der Probeansätze bei 37 °C ist ein großvolumiges Wasserbad (Thermostat U 10, Inaktivierungswasserbad) zu verwenden.
- Für jede Untersuchungsserie ist zusammen mit den Proben ein Kontrollwert anzusetzen. Dazu wird inaktives Serum bzw. SERULAT PK I entsprechend der Ausführungsvorschrift behandelt. Die absolute Extinktionsdifferenz | Ep EL | darf 0,005 nicht übersteigen. Bei größeren Abweichungen im allgemeinen ist dann EL > Ep ist die Serie mit frisch angesetzten ATP- und Kreatin-ATP-Lösungen zu wiederholen.
- Achtung! Die Präzision der Methode wird entscheidend beeinflußt von der Genauigkeit der Plasma-(Serum-)Dosierung.
 Kleine Differenzen zwischen der P- und L-Dosierung verursachen große Fehler, hervorgerufen von der höheren Primärkonzentration an anorg. Phosphat im Plasma (Serum).
- Der Substrat-Umsatz ist bis ca. 160 U CPK/l Plasma (Serum) proportional der Enzymaktivität. Werden höhere Aktivitäten errechnet (Der Substrat-Umsatz war dann geringer als der Enzymaktivität entspricht!!), kann die Inkubationszeit auf 20 Min. reduziert werden. Darüber hinaus ist es möglich, das Plasma (Serum) mit inaktivem Serum zu verdünnen oder auch nur 0,020 ml Serum oder Plasma einzusetzen.

Methodenmerkmale:

Methodenbearbeitung:

IaT Eberswalde-Finow; 1977

BIV Erfurt; 1976

Präzision:

in der Serie: (n = 10)

s % 6,0

von Tag zu Tag: (n = 20)

s % \(7,5 \\ (bei x = 50 U/1)

Probenanzahl/Tag · AK:

mind. 60 (Einzelbestimmungen)

Verbindlichkeitstermin:

1. 03. 1979

IST Sterowalds-Sizes - 1977 BLV budget; 1976

mind. 60

1. 03. 1979

1

KOBER-Reaktion:

Die Östrogene werden ohne vorherige Hydrolyse der Konjugate an SEPHADEX-G 10 adsorbiert und anschließend eluiert. Mit aliquoten Teilen des Eluats wird die KOBER-Reaktion (Umsetzung der Ostrogene in stark schwefelsaurer Lösung mit Phe-nolen zu orangeroten Reaktionsprodukten) durchgeführt.

Schweineharn, Rinderharn (Schwangerenharn) (Anmerkung 1)

Reagenzien:

Nr.	Reagenz	Konz.	Herstellung
1	SEPHADEX-G 10		
2	Salzsäure	0,3 N	25 ml 37%ige Salzsäure p. a. mit dest. Wasser zu 1 000 ml auffüllen.
3	Ammoniak-Lg.	0,5 N	37,6 ml 25%ige Ammoniak-Lg. p. a. mit dest. Wasser zu 1 000 ml auffüllen.
4	Schwefelsäure p. a.	96%ig	
5	Hydrochinon reinst		aus Wasser umkristallisieren
6	KOBER-Mischung		200 mg Hydrochinon in 15 ml Schwefelsäure lösen.
7	Essigsäure	75%ig	70 ml Eisessig p. a. mit 25 ml dest. Wasser verdünnen.
8	Östrogen- Standard-Lg.		a) 100 mg Östron in 50 ml abs. Äthanol lösen.
			b) 0,5 ml Lg. a) mit Ammoniak- Lg. auf 100 ml auffüllen (= 1 mg 0./100 ml).
			c) 2,5, 4,5, 8,0 ml Lg. b) mit Ammoniak-Lg. zu 100 ml auffüllen (≤ 5,0, 9,0, 16,0 mg 0./1 000 ml Harn).

ii engetti E-

edenulati neb completino del Sydrolpes den Ronjugata

"Anole et desemblant und enechlischen alulort.

"Tusten Tellen des Elusts wird die HORR-Resktion (Un
"Tusten Tellen des Elusts wird die HORR-Reskring mit was

"Tusten Tellen des des Standakten) derebratene

Rinderharn (Sommangerenberg)

prohests sattless and the control of the control of

Blais

Ausführung:

A. Säulenchromatographische Abtrennung der Östrogene und ihrer Konjugate aus dem Harn

Gera	ite	Ausführung	Anmer- kungen	
1 Chro	om Len			2
grad		Aufgabefolge: 5 ml Salzsäure + 0,5 ml Harn (zentrifugiert) 10 ml Salzsäure 5 ml Wasser 4 3 ml Ammoniak-Lg. 20 ml Ammoniak-Lg.	Eluat: verwerfen verwerfen verwerfen die ersten 10 ml auf- fangen	3,4,5 6

andaronatographi seba datregang der Ustremann and

State of the state of		Austinias	
	Commence appropriate and a contract of the commence of the contract of the commence of the commence of the commence of the contract of the commence of the com	Constitution on Constitution Disk Edition	
	i granti	Authaberolagi	
Cale	initamen	cantaguard (sentral lu de C) :	
	or friends	10.ml Salzakurs	
	Majanah		
	nergowasu	3 ml Amortsk-Tg.	
	refere e 16 1 - lue un Of 1 eageal		

Ausführung:

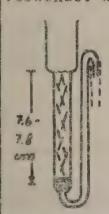
B. Bestimmung der Östrogene im Eluat:

	Geräte		Anmer- kungan		
1	RG	P	L	St	
		Elue	ml O,40 ml AmmLg.	Ostrogen- StLg.	
			mischen; erhitzen 100 - 103 °C (Wass Alu-Block), in Eis schnell abkühlen, stellen.	serbad oder wasser	
2		+ 1,40	ml Essignaure		The second secon
			mischen; 5 Min. in stellen; auf Zimme anwärmen.		7
3			Fluoreszenzintensi und St gegen L inr Min. messen (Prima 510 nm; Sekundärfi	merhalb 30 irstrahlung:	

Anmerkungen:

Die Harne dürfen nicht durch Kot, Strch, Futter ... verunreinigt oder mit diesen Stoffen in Berührung gekommen sein.

Vorschrift zur Formierung der Chromatographie-Säulen: SEPHADEX-G 10 ca. 1 Woche vor Gebrauch in dest. Wasser ein-quellen. Täglich das Harz aufrühren und nach dem Absetzen der groben Anteile das Feinstkorn mit dem Wasser abdekantieren. Frisches Wasser auffüllen.



Verwendet werden Austauschersäulen (Innendurchmesser 9 mm; Länge 8 - 10 cm) mit angeschmolzenem Aufgabebecher (Volumen ca. 25 ml) und S-förmig gebogenem Kapillar-Auslauf, der ein Leerlaufen der Säule verhindert. In das untere Ende der Säule wird ein kleiner Glaswollebausch unter Wasser luftfrei eingebracht. Die Säulen werden mit SEPHADEX-G 10 (in Wasser suspendiert) in einem Guß gefüllt. Die Schichthöhe soll bei allen Säulen einheitlich 7,6 - 7,8 cm betragen Vor dem ersten Gebrauch werden die Säulen mit 0,3 N Salzsaure, Wasser, 0,5 N Ammoniak-Lg. und Wasser (bis zur neutralen Reaktion) gewaschen.

Durchflußgeschwindigkeiten der aufgegebenen Lösungen durch die Säulen:

max. 5 ml/h max. 8 ml/h

Die Geschwindigkeit wird eingestellt durch Aufstecken von unterschiedlich langen Plasteschläuchen auf den Säulenauslauf (s. Abb.).

Vor Aufgabe jeder neuen Lg. vollständigen Durchlauf (bis zum oberen Austauscherharz-Abschluß!) der vorherigen Ig. abwarten!

Werden sehr niedrige Östrogen-Konzentrationen im Harn erwartet (< 1 mg/1 000 ml Harn), dann ist zweckmäßig 1,0 ml Harn gemischt mit 5 ml 0,35 N Salzsäure als 1 auf die Säule aufzugeben.

Rechnet man mit hohen Östrogen-Konzentrationen (> 20 mg/ 1 000 ml Harn), dann gibt man vorteilhaft nur 0,25 ml Harn gemischt mit 5 ml 0,3 N Salzsäure als (1) auf die Säule auf.

Die Vorschrift kann auch zur Östrogen-Bestimmung im Rinderund Schwangerenharn mit folgenden Veränderungen angewendet werden:

Rinderharn: Vom Eluat von (5) werden die ersten 14 ml aufgefangen.

und (5) Schwangerenharn: Es werden die Bluate von (4) insgesamt die ersten 18 ml, aufgefangen. Die Östrogen-Standard-Lg. ist mit Ostriol zu bersiten!

127 82

The Period of the color of the confidence of the confidence of the color of the col

Price acceptant and acceptant and acceptant and acceptant acceptan

The last solvents of the terms of the state of the state

the tree treestant name to the treestant to the treestant and treestant to the treestant and treestant to the treestant and treestant tr

prove Pine E-ne porioù aux dons casa da Provenda Prev deboesiet d'a azenseren

The case of the second Control of the case of the case

,

GESAMT-ÖSTROGENE

KOBER-Reaktion

Harn

H 02.1

Anmerkungen (Fortsetzung):

- Zur Regenerierung der Chromatographie-Säulen werden nach (5 nochmals 20 ml Ammoniak-Lg. und anschließend Wasser (bis zur neutralen Reaktion des Eluats) aufgegeben. Die Durchfluß-geschwindigkeiten können dabei beliebig groß sein.
- 7 Die Proben sind generell nach dem Erhitzen bis zur unmittelbaren Messung dunkel zu stellen.

Berechnung:

(Ostrogen-Konzentration im Schweineharn)

$$\frac{F_{P}}{F_{St}}$$
 • 5 (bzw. 9, bzw. 16) = x mg GESAMT-ÖSTROGENE/1 000 ml Harn

Methodenmerkmale:

Methodenbearbeitung:	IaT Eberswalde-Finow, 1974
Wiederauffindung:	95 - 105 %
Präzision: in der Serie:	
(n = 20)	s % < 4, 0
von Tag zu Tag: (n = 20)	s % 🕻 6,0
Probenanzehl/Tag • AK:	abhängig von der Anzahl der eingesetzten Chromatographie- Säulen (1 Bestimmung/Säule • Tag)

Verbindlichkeitstermin: 1. 03. 1979

no for to sig-Assess

nash

8 235ci

The control of the particular states and the control of the contro

stad goodwell nach dem Erbitzen bis sar ungistele

(creater: noter to schwe: notern)

(Com. 9, beg. 16) = x mg CEtau-Gernocens/1 200

In Iberralde-Fronk, nor

P 608 - FR

0.8 & 8.0

0.3 3

8 01015

GLUKOSE K 01.1.1

o-Toluidin-Methode ohne Enteiweißung:

Glukose reagiert mit o-Toluidin in essigsaurer Lösung beim Erhitzen unter Bildung eines blaugrünen Kondensationsprodukts.

(Die Methode ist geeignet für alle hämolysefreien und auch für lipämische Proben.)

Plasma (Serum)

Reagenzien:

Nr.	Reagenz	Konz.	Herstellung
1	DEXTROGENS DAB 7		
2	Glukose-Standard-Lg.		Glukose p. a. bis zur Ge- wichtskonstanz bei 105 °C trocknen. 1 000 mg davon in bei 2-5 °C gesättigter Benzoesäure-Lg. zu 1 000 ml Lg. lösen.
3	DEXTROGENS (modifiziert)		50 ml DENTROGENS DAB 7 in einem Kolben mit einer Spatelspitze Arsen(III)-oxid p. a. (ca. 15 mg) versetzen und kurz aufkochen lassen (Heizplatte); schnell abkühlen; weitere 50 ml DEXTROGENS DAB 7 zufügen; Reagenz über Glaswolle in eine Braunglasflasche filtrieren. Kühl aufbewahren (s. Anmerkung 4).

Ausführung:

	Geräte	Ausführung			
		P	L St		
1	H=RG	0,020 ml Plasma	0,020 ml 0,020 ml Wasser Glukese- StLg.		
2		+ 1,500 ml	DEXTROGENS DAB 7	2, 3	
			mischen. 9 Min. im Wasserbad (100 °C) oder im Aluminiumblock er- hitzen. Danach schnell in kaltem Wasser abkühlen.	4, 5	
3			Innerhalb yon 30 Min. P und St gagen L bei 630 nm photo- metrieren.		

Berechnung:

GLUKOSE O-To.

o-Toluidin-Methode ohne Enteiweißung

Plasma (Serum)

K 01.1.1

Anmerkungen:

- 1 Bei der Plasma(Serum-)gewinnung genau Arbeitsanweisung A 02.1 bzw. A 03.1 beachten.
 Die Glukosebestimmung sollte im allgemeinen umgehend durchgeführt werden. Eingefrorene Proben, die nach dem Auftauen Ausflockungen enthalten, sind vor dem Einsatz zu zentrifugieren.
- 2 Haltbarkeitsangaben für DEXTROGENS DAB 7 beachten!
 Das Reagenz soll farblos sein; seine Extinktion gemessen gegen Wasser bei 630 nm darf 0,02 nicht übersteigen.
- Bei Verwendung der Meßansätze EKA oder EK 5 mit Halbmikroküvetten kann die Einsatzmenge an DEXTROGENS DAB 7 auf 1,200 ml reduziert werden.
- Werden Glukosekonzentrationen unter 40 mg/100 ml erwartet, so ist vorteilhaft DEXTROGENS (modifiziert) einzusetzen. Die Empfindlichkeit der Reaktion steigt dadurch auf das 2- bis 3fache.
- Werden die Proben in einem kochenden Wasserbad erhitzt, so müssen die Reagenaglasöffnungen mit einem Filterpapier abgedeckt werden. (Durch Wasser (Kondenswasser) wird die Empfindlichkeit der Reaktion herabgesetzt.)

Methodenmerkmale:

Methodenbearbeitung:	IaT Eberswalde-Finow, 1976
Wiederauffindung:	98 - 100 %
Präzision: in der Serie: (n = 20) von Tag zu Tag: (n = 20)	s % (3,0
Probenanzahl/Tag · AK:	mind. 300 (Einfachbestimmungen)

Verbindlichkeitstermin:

1. 03. 1979

GLUKOSE K 01.2.S

FERMOGNOST @ -Blutzucker-Siebtest:

Glukose wird in Gegenwart von Sauerstoff und Wasser durch Glukoseoxydase zu Glukonsäure und Wasserstoffperoxid umgesetzt. Das Wasserstoffperoxid dehydriert mit Hilfe von Peroxydase o-Dianisidin zu einem in schwefelsaurer Lösung stabilen roten Farbstoff.

Die Farbintensitäten der roten Farbstofflösungen werden visuell gegen die von Testseren eingeschätzt.

Plasma, (Serum)

Reagenzien:

Nr.	Reagenz	Konz.	Herstellung
1	GOD-POD- Dianisidin-Lg.		a) Inhalt der Flasche 501/180 A in dest. Wasser zu 60 ml Lg. 16sen. 0,3 ml Chloroform zugeben. Haltbarkeit: mind. 30 Tage bei 2 - 5 °C.
			 b) Inhalt der Flasche 501/180 B in 4 ml dest. Wasser lösen. Lg. kühl aufbewahren. c) 10 ml Lg. a) mit 0,1 ml Lg. b) mischen. Haltbarkeit: 12 Stunden bei 2 - 5 °C.
2	Schwefelsäure	16 N	22,5 ml konz. Schwefelsäure langsam und unter Kühlung zu 25 ml dest. Wasser geben. Abkühlen. Mit dest. Wasser auf 50 ml auffüllen.

GLUKOSE

FERMOGNOST R-Blutzucker-Siebtest

Plasma (Serum)

K 01.2.S

Ausführung:

	Geräte	Ausführung	Anmer- kungen
1	Misch- platte	0,200 ml dest. Wasser	1
		P St	
2		+ 0,010 ml Plasma + 0,010 ml (Serum) Testserum	2
		mischen.	
3	Tüpfel- platte	0,025 ml Verdünnung + 0,070 ml GOD-POD-Dianisidin-Lg.c	
		mischen. 20 Min. stehen lassen.	
4		+ 0,070 ml Schwefelsäure mischen.	3
5		Farbintensitäten der roten Lösungen ein- schätzen.	

Auswertung:

Die Farbintensitäten der roten Reaktionslösungen sind proportional der Plasma-(Serum-)Glukose-Konzentrationen.

Die Farbintensitäten der Reaktionslösungen werden visuell gegen die des Glukose-Testserums eingeschätzt.

gg ar allians

6.200 ml dust Masses

In C C v omess 18 000,0

and sohen.

0.025 mi Verdun vrz 0.070 - Dienisiana

micchen.

the state that the appropriate section of the particle and the particle an

, HU . A.B

Ferbick and the control of the contr

stolikh Car (Serem-) Glain se-Konsentrali onen

ille um cefere nogened labolities Tes astitut

GLUKOSE

FERMOGNOST R -Blutzucker-Siebtest

Plasma (Serum)

K 01.2.5

Anmerkungen:

- Die bereiteten <u>Serum-Verdünnungen</u> können auch für den **8**-Globulin-Siebtest (E 03.1.S) und den GESAMT-EIWEISS-Siebtest (E 01.2.S) eingesetzt werden.
- Die Glukose-Konzentration des Testserums ist so zu wählen, daß sie der unteren Normgrenze der betreffenden Tierart entspricht.
- Es ist bei einiger Übung auch möglich, die Farbintensitäten der gelborangen Reaktionsmischungen vor Zugabe der Schwefelsäure visuell einzuschätzen. In diesem Fall mischt man 0,060 ml Verdünnung mit 0,100 ml GOD-POD-Dianisidin-Lg. und beurteilt die Farbintensitäten nach 20 Min. Die Färbung der Proben verblaßt nach einiger Zeit!

Methodenmerkmale:

Methodenbearbeitung:

IaT Eberswalde-Finow, 1976

Proben mit Glukosekonzentrationsdifferenzen von 10 mg/100 ml sind gut voneinander zu unterscheiden.

Probenanzahl/Tag · AK:

mind. 500 (Einfachbestimmungen)

Verbindlichkeitstermin:

1. 03. 1979



3 Heferung der "Klinisch-chemischen Untersuchungsmethoden für Vererinarmedizinische Einrichtungen der DDR", Eberswakte 1952

Anbei übergeben wir ihnen die 2. Fortsetzung der 1976 mit der 1. Lieferung erschienenen Arbeitamappe für des klimsch-chemische 3 abor:

crese 3. Lieferung umfaßt neue Untersochungsmethnden und über mit eilete Methoden bzw. Methodenschrifte, die bereits in der 1. und 2. Defening erschienen sind.

Wir billen Die, die einzelnen Methoden sorgfältig in Ihre Ar beittmeitten einzuordnen. Achten Sie inebesondere derauf, daß Sie
beim Tinhelten der überarbeiteten Methoden (kompleite Methoden
nder auch dur einzelne Blätter!) die entsprechenden alten Seiten
aus Ihrez Arbeitsmappe entfernen.

